
Bachelorarbeit

Frau
Sabrina Päßler

**Validierung üblicher
Methoden zur Diagnostik
katheterassoziierter
Infektionen**

Mittweida, 2011

Bachelorarbeit

Validierung üblicher Methoden zur Diagnostik katheterassoziierter Infektionen

Autor:

Frau

Sabrina Päßler

Studiengang:

Biotechnologie/ Bioinformatik

Seminargruppe:

BI08w1-B

Erstprüfer:

Prof. Dr. rer. nat. Petra Radehaus

Zweitprüfer:

Dr. med. Hans-Peter Maidhof

Einreichung:

Mittweida, 24.10.2011

Verteidigung/Bewertung:

Mittweida, 2011

Bibliografische Beschreibung:

Päßler, Sabrina:

Validierung üblicher Methoden zur Diagnostik katheterassoziierter Infektionen. - 2011. - 10, 53, 5 S.

Mittweida, Hochschule Mittweida, Fakultät MNI, Bachelorarbeit, 2011

Referat:

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit verschiedenen Methoden zur Diagnostik katheterassoziierter Infektionen. Das Hauptziel ist es, einerseits eine für die Routinediagnostik anwendbare Methode mit hoher Sensitivität und Spezifität sowie einer einfachen Handhabung zu finden. Andererseits soll überprüft werden, ob die Agar-Roll-Technik, die nur für zentrale Venenkatheter etabliert wurde, auch auf andere Kathetertypen übertragen werden kann.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all jenen herzlich bedanken, die mich beim Erstellen dieser Arbeit unterstützt haben.

Allen voran möchte ich mich besonders bei Herrn Dr. med. Hans-Peter Maidhof Leiter der Abteilung Mikrobiologie/ Infektionsserologie der Zentrum für Diagnostik GmbH für die sehr gute Betreuung während der gesamten Bachelorarbeitszeit bedanken, in der er mir mit zahlreichen Hinweisen, Ratschlägen und Hilfestellungen zur Seite stand. Besonders möchte ich mich dabei für das geduldige Lesen und seine vielen hilfreichen und konstruktiven Kommentare bedanken, welche maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Für die Betreuung seitens der Hochschule und die Übernahme des Erstgutachtens möchte ich mich herzlich bei Frau Prof. Petra Radehaus bedanken.

Mein Dank gilt außerdem allen Mitarbeitern der Abteilung Mikrobiologie/ Infektionsserologie der Zentrum für Diagnostik GmbH für die Unterstützung durch fachliche Hilfestellungen und das freundschaftliche Arbeitsklima.

Des Weiteren möchte ich mich recht herzlich bei allen Ärzten für das Ausfüllen der Fragebögen bedanken.

Für die zahlreichen gemeinsamen Fahrten möchte ich mich darüber hinaus bei Diana Stock, Petra Richter und Manuela Thieme bedanken.

Bedanken möchte ich mich ebenso bei meinen Mitbewohnern der WG für ihre Hilfe und Geduld.

Ganz besonders bedanken möchte ich mich bei meinen Freunden, meiner Familie und meinen Eltern Mona und Falk, die mich all die Jahre hinweg tatkräftig unterstützt haben und meinen Plänen und Wünschen gegenüber immer offen waren.

Inhalt

Inhalt.....	I
Abbildungsverzeichnis.....	IV
Tabellenverzeichnis.....	V
Abkürzungsverzeichnis.....	VI
1 Einleitung.....	1
2 Theoretische Grundlagen.....	3
2.1 Katheterassoziierte Infektion.....	3
2.2 Epidemiologie.....	4
2.3 Pathogenese.....	5
2.4 Erregerspektrum.....	8
2.5 Diagnostik.....	9
2.5.1 Klinische Diagnostik.....	9
2.5.2 Mikrobielle Diagnostik am entfernten Katheter.....	9
2.5.3 Mikrobielle Diagnostik am liegenden Katheter.....	11
2.6 Beschichtete Katheter.....	12
2.7 Prävention.....	14
3 Materialien und Methoden.....	15
3.1 Geräte und Materialien.....	15
3.1.1 Geräte.....	15

3.1.2	Materialien	16
3.2	Patientenmaterial.....	17
3.3	Dokumentation der klinischen Angaben	17
3.4	Katheter.....	18
3.5	Methoden	20
3.5.1	Agar-Roll-Technik nach Maki et al. 1977	20
3.5.2	Voruntersuchungen.....	20
3.5.3	Ultraschall-Methode nach Sherertz et al. 1990	21
3.5.4	Vortexmethode nach Brun-Buisson et al. 1987	21
3.5.5	Bouillonmethode	22
3.5.6	Gramfärbemethode nach Cooper und Hopkins 1985.....	22
3.5.7	Eigen, rationell verbesserte Methode.....	23
3.5.8	Erregeridentifikation	23
3.5.9	Berechnung von Sensitivität und Spezifität	23
4	Ergebnisse	25
4.1	Ergebnisse der Voruntersuchungen	25
4.2	Keimzählung und Erregeridentifikation	26
4.3	Validierung der Methoden mit Hilfe der Agar-Roll-Technik.....	30
4.4	Ergebnisse der klinischen Angaben	33
4.5	Ergebnisse der eigen zusammengestellten Methode	33
4.6	Überprüfung der Methoden mit Hilfe klinischer Angaben	34

4.7	Übertragbarkeit der Maki-Methode auf andere Kathetertypen.....	37
5	Diskussion	40
5.1	Erregerwachstum bei den einzelnen Methoden	40
5.1.1	Resultate der Vorbetrachtung	40
5.1.2	Erregernachweis der einzelnen Methoden.....	41
5.2	Beurteilung der eigen zusammengestellten Methode.....	42
5.3	Vergleich der Agar-Roll-Technik mit anderen Methoden	43
5.3.1	Vergleich bezüglich Kultur-positiver Katheter.....	43
5.3.2	Vergleich bezüglich des Vorliegens einer Infektion.....	44
5.4	Validierung der Methoden mit Hilfe klinischer Angaben	45
5.5	Anwendbarkeit der Methoden für die Routinediagnostik	48
5.5.1	Methode zum sicheren Ausschluss katheterassoziierter Infektionen	48
5.5.2	Methoden zum sicheren Nachweis katheterassoziierter Infektionen.....	49
5.6	Übertragbarkeit der Agar-Roll-Technik.....	50
6	Zusammenfassung und Ausblick.....	53
7	Literaturverzeichnis	55
	Anhang A: CDC- und IDSA-Kriterien	59
	Anhang B1: Fragebögen für die behandelnden Ärzte 1	61
	Anhang B2: Fragebögen für die behandelnden Ärzte 2.....	62
	Selbstständigkeitserklärung.....	63

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Kolonisationswege von Kathetern (Guggenbichler 2011)	5
Abbildung 2: Proliferation von Mikroorganismen auf Kunststoffoberflächen nach 1 h, 2 h, 6 h und 12 h (Guggenbichler 2011)	7
Abbildung 3: Ausrollmethode nach Maki et al. 1977	10
Abbildung 4: Verteilung der Kathetertypen	19
Abbildung 5: Gründe für Katheterentfernung	19
Abbildung 6: Allgemeine Darstellung einer Vierfeldertafel in einer Diagnosestudie (Schwarzer et al. 2002)	24
Abbildung 7: Vergleich des mikrobiellen Wachstums zwischen Agar-Roll-Technik und Ultraschall-, Vortex-und Bouillonmethode.....	30
Abbildung 8: Infektionsübereinstimmungen beim Vergleich mit der Agar-Roll-Technik	32
Abbildung 9: Vergleich der mikrobiologischen und klinischen Angaben bezogen auf die Anzahl der zurückgesandten Fragebögen	35
Abbildung 10: Übereinstimmungen und Abweichungen der klinischen und mikrobiologischen Ergebnisse	38

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Häufigkeit der Kathetersepsis nach Kathetertyp (Daschner et al. 2006)....	5
Tabelle 2: Mikrobielle Verursacher von Katheterinfekten/-septikamien (Widmer et al. 2011)	8
Tabelle 3: Wachstum nach 4-maligem Ausrollen (kw=kein Wachstum)	25
Tabelle 4: Erregerverteilung Agar-Roll-Technik.....	26
Tabelle 5: Wachstum Agar-Roll-Technik	27
Tabelle 6: Erregerverteilung Ultraschallmethode.....	28
Tabelle 7: Erregerverteilung Vortexmethode	29
Tabelle 8: Erregerverteilung Bouillonmethode.....	30
Tabelle 9: Übereinstimmungen und Abweichungen beim Vergleich mit der Agar-Roll-Technik; A: mikrobielles Wachstum bei beiden Methoden, B: kein mikrobielles Wachstum bei beiden Methoden, C: mikrobielles Wachstum bei der Agar-Roll-Technik und kein mikrobielles Wachstum bei der Vergleichsmethode, D: mikrobielles Wachstum bei der Vergleichsmethode und kein mikrobielles Wachstum bei der Agar-Roll-Technik.....	31
Tabelle 10: Erregerverteilung der eigen zusammengestellten Methode.....	34

Abkürzungsverzeichnis

CDC	Centers for Diseases Control and Prevention
CHSD	Chlorhexidin-Sulfadiazin
CRP	C-reaktives Protein
ICP	intracranial pressure
IDSA	Infectious Diseases Society of America
IST	Intensivstation
KbE	Koloniebildende Einheit
ZVK	Zentraler Venenkatheter

1 Einleitung

Intravaskuläre Katheter zählen zu den bedeutendsten Entwicklungen der Medizingeschichte, da die Katheterisierung von Gefäßen einen in vielen Fällen unverzichtbaren Bestandteil der medizinischen Behandlung darstellt. Im Durchschnitt werden 10-20 % der Patienten auf Normalstationen und mehr als 50 % der Intensivpatienten mit Hilfe von peripheren Verweilkanülen versorgt. Zentralvenenkatheter werden vorrangig auf Intensivstationen gelegt und kommen je nach Fachrichtung bei 80-100 % der Intensivpatienten vor (Trautmann et al. 2004).

Katheter ermöglichen die Zufuhr von intravenösen Flüssigkeiten, Medikamenten sowie Blutprodukten. Zugleich erlauben sie die parenterale Ernährung sowie die Überwachung des hämodynamischen Status schwer erkrankter Patienten (Trautmann et al. 2004; Darschner et al. 2006).

Die direkte Verbindung zwischen Katheter und Blutbahn birgt neben diesen unbestrittenen Vorteilen jedoch auch Gefahren. Katheterinfektionen und Kathetersepsis zählen zu den oftmals auftretenden Komplikationen auf Intensivstationen und gehören neben Harnwegsentzündungen und der Pneumonie zu den häufigsten nosokomialen Infektionen. Schätzungen zufolge treten 90 % der nosokomialen Bakteriämien als Folge katheterassoziierter Infektionen auf (Pearson et al. 1997). Mit 10 % - 20 % liegt die Letalität dieser Bakteriämien hierbei erschreckend hoch (Hampton et al. 1988).

Vor allem bei Intensivpatienten mit unklarem Fieber besteht bei der Ursachenklärung eine erhebliche diagnostische Schwierigkeit, vor allem bei Verdacht auf eine katheterassozierte Infektion. Da es mikrobiologisch noch keinen etablierten Schnelltest bei liegendem Katheter gibt, werden diese bei Verdacht auf eine katheterassozierte Infektion entfernt. Aber auch die etablierten mikrobiologischen Methoden nach Entfernung erbringen in vielen Fällen keine Diagnose, da Spezifität und Sensitivität der Methoden noch immer nicht optimal sind. Folglich bleibt in vielen

Fällen ungewiss, ob bei unklarem Fieber eine Kathetersepsis vorliegt oder nicht (Trautmann et al. 2004; Rüden et al. 2000).

Trotz zahlreicher Forschungen auf diesem Gebiet ist es bislang noch nicht gelungen eine optimale Methode für die Diagnostik am liegenden Katheter zu etablieren bzw. die Adhäsion und Aggregation von Erregern spezifisch zu hemmen. Eine Katheterentfernung ist zurzeit somit unumgänglich und bedarf einer geeigneten Methode zur Erregerermittlung.

Ziel dieser Arbeit ist es daher, verschiedene etablierte Methoden zu vergleichen und eine für die Routinediagnostik geeignete Methode zu finden. Darüber hinaus soll festgestellt werden, ob die als Standardmethode geltende Agar-Roll-Technik, die nur für zentrale Venenkatheter etabliert wurde, auch auf andere Katheterspitzen übertragen werden kann.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Katheterassoziierte Infektion

Der Begriff der Katheterinfektion wird in der Literatur sehr unterschiedlich verwendet. Dabei eignet sich für eine epidemiologische Erfassung die Definition der Centers for Diseases Control and Prevention (CDC) der USA (siehe Anlage A). Sie wird von Hygienefachleuten verwendet, um Infektionsraten zu erheben, die zwischen verschiedenen Kliniken vergleichbar sind. Die Inzidenz der katheterassoziierten Infektion wird bei Verwendung dieser Definition überschätzt, da jede Septikämie, bei der keine andere Infektionsquelle erkennbar ist als der Katheter, als primäre Septikämie kategorisiert und bei gleichzeitigem Vorhandensein eines zentralvenösen Katheters als „katheterassoziiert“ erfasst wird (O'Grady 2002).

Für die klinische Diagnosefindung werden daher Definitionen, wie sie von der Infectious Diseases Society of America (IDSA) publiziert wurden, verwendet (siehe Anlage A). Für die Diagnose einer katheterassoziierten Infektion wird hier die Verbindung zwischen einer positiven Blutkultur und einer mikrobiologisch nachzuweisenden Katheterkolonisation gefordert (Trautmann et al. 2004).

Grundsätzlich ist zwischen lokalen Infekten an der Katheter-Einstichstelle, Katheterkolonisation und katheterassoziiierter Sepsis zu unterscheiden. Laut der IDSA sind diese folgendermaßen definiert:

Bei einer lokalen Infektion der Einstichstelle treten erkennbare Entzündungszeichen wie Rötung, Schwellung, Druckschmerz und eventuell Austritt von eitrigem Sekret auf. Sie kann durchaus auf eine Infektion des Katheters hinweisen, dies muss aber nicht zwingend der Fall sein.

Lässt sich eine bakterielle Besiedlung der Katheterspitze ohne Bakteriämie und Infektionszeichen nachweisen, handelt es sich um eine Kolonisation des Katheters. Der Keimnachweis kann dabei an der Katheterspitze, an einem subkutanen Kathetersegment oder an der Katheter-Konnektionsstelle erfolgen.

Beim Nachweis einer Katheterkolonisation mit gleichzeitigem Vorliegen von klinischen Infektionszeichen (z.B. Fieber, Schüttelfrost) und keinem anderen nachweisbaren Infektionsherd handelt es sich hingegen um eine katheterassoziierte Infektion (Marre et al. 2008).

Ein wichtiger Unterschied zwischen diesen beiden Definitionen ist die Bewertung von positiven Blutkulturen, die das Wachstum von koagulase-negativen Staphylokokken oder anderen Hautkeimen zeigen. Laut CDC handelt es sich beim Nachweis derartiger Erreger in Verbindung mit klinischen Infektionsanzeichen um eine katheterassoziierte Infektion. Laut IDSA ist dies nur dann statthaft, wenn die Erreger aus Blutkultur und Katheter übereinstimmen (Trautmann et al. 2004; Marre et al. 2008).

Die CDC-Kriterien liefern somit fast immer eine höhere Infektionsrate, sind also deutlich sensativer, dafür aber auch weniger spezifisch als die IDSA-Kriterien. Für die klinische Diagnosefindung eignet sich daher nur die IDSA-Definition (Trautmann et al. 2004).

2.2 Epidemiologie

Die Häufigkeitsbestimmung von katheterassoziierten Infektionen weist, wie bereits erwähnt, durch nicht einheitliche Definitionen erhebliche Unterschiede auf. Wie in Tabelle 1 zu sehen, liegt die Inzidenz der katheterassoziierten Infektionen bei zentralen Venenkathetern in Deutschland bezogen auf 100 Katheter bei 3,3 %, bzw. 2,3 Episoden pro 1000 Kathetertage (Schummer et al. 2009). Von einem Kathetertag wird gesprochen, wenn bei einem Patienten um 0.00 Uhr ein Katheter liegt. Die Rate der katheterassoziierten Bakteriämien liegt laut einer Studie auf 1000 Kathetertage bezogen zwischen 2,1 auf konservativen Intensivstationen und 30,2 auf verbrennungschirurgischen Intensivstationen (Stein et al. 2003).

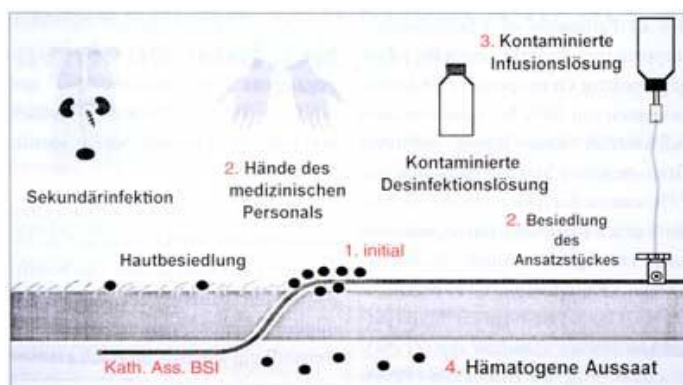
Tabelle 1: Häufigkeit der Kathetersepsis nach Kathetertyp (Daschner et al. 2006)

Katheterart	Mittelwerte pro 100 Katheter			Mittelwerte pro 1000 Kathetertage	
	n	Mittelwert	CI ₉₅	Mittelwert	CI ₉₅
Peripherer Venenkatheter	13	0,2	0,1–0,3	0,6	0,3–1,2
Arterieller Katheter	6	1,5	0,9–2,4	2,9	1,8–4,5
ZVK, nicht beschichtet, <10 Tage Liegedauer	61	3,3	3,3–4,0	2,3	2,0–2,4
Pulmonalkatheter	12	1,9	1,1–2,5	5,5	3,2–12,4
Hämodialysekatheter ohne Manschette	15	16,2	13,5–18,3	2,8	2,3–3,1
Hämodialysekatheter mit Manschette	6	6,3	4,2–9,2	1,1	0,7–1,6
Peripher eingeführter langer ZVK	8	1,2	0,5–2,2	0,4	0,2–0,7
Tunnelierter ZVK	18	20,9	18,2–21,9	1,2	1,0–1,3
Port-a-cath	13	5,1	4,0–6,3	0,2	0,1–0,2

2.3 Pathogenese

Manifest wird eine Katheterinfektion in der Regel erst dann, wenn Bakterien Zugang zur Katheterspitze gefunden haben. Dies kann prinzipiell bei Anlage eines Gefäßkatheters und bei liegendem Katheter via Katheteraußenseite oder durch das Lumen des Katheters erfolgen. Bei kurz liegenden Kathetern (Liegedauer ≤ 8 Tage) ist die Hauptinfektionsquelle mit 75–80 % die Haut. Bei Kathetern mit einer Liegedauer von mehr als 8 Tagen ist dies hingegen häufiger Hub und Lumen (Trautmann et al. 2004; Daschner et al. 2006).

Grundsätzlich wird vermutet, dass die Erreger auf drei Wegen in das perivaskuläre Weichteilgewebe und die Blutbahn eindringen können. Die nachfolgende Abbildung veranschaulicht die verschiedenen Kolonisationswege:

**Abbildung 1: Kolonisationswege von Kathetern (Guggenbichler 2011)**

Einen Infektionsweg stellt dabei die Insertion des Katheters dar. Hierbei können Hautkeime durch die Kathetereinstichsstelle in die Blutbahn verschleppt werden. Die meisten katheterassoziierten Infektionen werden daher durch Keime verursacht, die sich auf der Haut befinden. Bei der intraluminären Kolonisation wandern die Erreger dagegen ausgehend vom Ansatzstück über das Innenlumen des Katheters in die Blutbahn. Diese Kontaminationen erfolgen dabei vor allem durch das Umstecken von Infusionen sowie Diskonnektionen und Rekonnektionen an den Dreiwegehähnern. Neuere Konnektionsstücke, die eine berührungsfreie Diskonnektion ermöglichen und eine Öffnung des Systems bei Infusionswechsel vermeiden, sollen diese Art von Kontamination in Zukunft weitestgehend verhindern. Bei der extraluminären Kolonisation können die Erreger entlang der Katheteraußenseite über die Eintrittsstelle in die Blutbahn des Patienten wandern. Dieser Infektionsweg scheint vor allem bei längerer Liegedauer des Katheters eine zentrale Rolle zu spielen (Trautmann et al. 2004).

Hinzu kommt die Biofilmbildung durch die Interaktion von Erregern mit dem Plastikmaterial des Katheters. Es kommt dabei einerseits durch elektrostatische Anziehung und Van-der-Waals-Kräfte andererseits bei Erregern mit hydrophober Oberfläche durch hydrophobe Interaktion zu einer Anheftung der Erreger an die Polymeroberfläche des Gefäßkatheters. Anschließend werden sowohl das Polymermaterial als auch die bereits anhaftenden Erreger von Plasma- und Bindegewebsproteinen bedeckt. Die Entstehung dieser ersten Agglomerate ist in Abbildung 2 dargestellt.

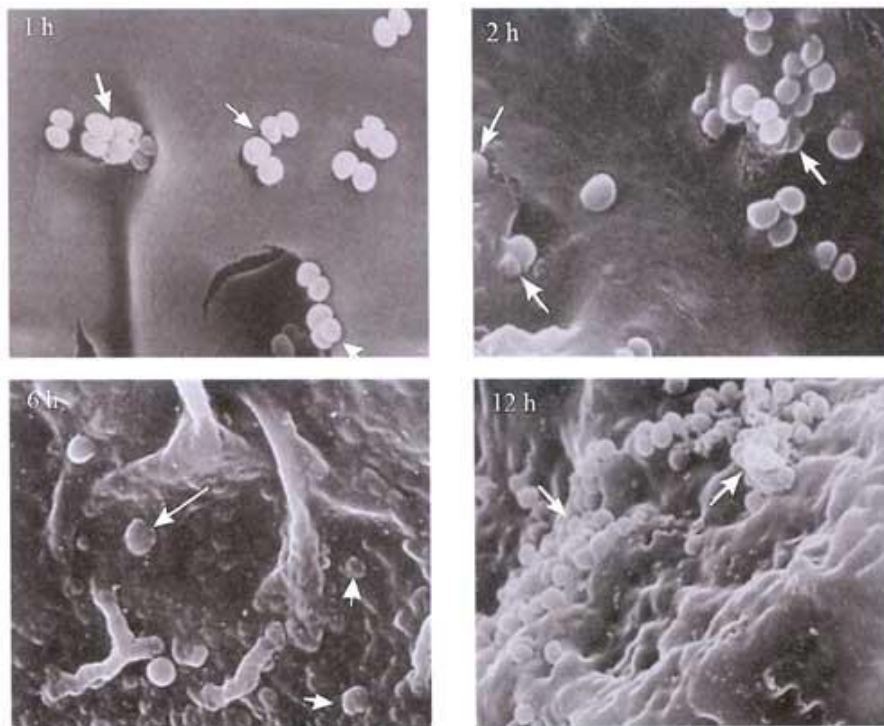


Abbildung 2: Proliferation von Mikroorganismen auf Kunststoffoberflächen nach 1 h, 2 h, 6 h und 12 h (Guggenbichler 2011)

Das weitere Wachstum des Biofilms wird dann durch extrazelluläre Proteine und Polysaccharide der Erreger vermittelt (Trautmann et al. 2004). Die Organismen eines Biofilms sind so in der Lage, Infektionen durch Ablösen einzelner Zellen von dem Katheter oder durch Bildung sogenannter Endotoxine auszulösen. Dabei weisen diese Organismen eine erhöhte Toleranz gegenüber antibiotischen Mitteln in gewohnten Konzentrationen auf, welches eine Therapie dieser Erreger nochmals erheblich erschwert (Donlan et al. 2011). Studien belegen, dass dieser Prozess vorherrschend an der Katheteraußenseite zu finden ist und erst bei Liegedauern über 30 Tagen auch im Lumen des Katheters eine Rolle spielt. (Raad et al. 1993) Im Fokus der katheterassoziierten Infektion stehen dabei primär koagulase-negative Staphylokokken, die in der Lage sind, die genannten Stoffwechselprodukte zu bilden und sich dadurch besonders häufig an Katheterspitzen ansiedeln (Trautmann et al. 2004).

Eine vierte Möglichkeit, die allerdings nur eine untergeordnete Rolle spielt, ist die hämatogene Besiedlung des Katheters. So kann beispielsweise auch ein

katheterferner Infektionsherd zur Kolonisation der Katheterspitze führen. Dieser Infektionsweg ist dabei jedoch selten und meist für Infektionen mit Enterokokken und gramnegativen Erregern sowie Hefepilzen verantwortlich (Hampton et al. 1988; Pinkawa 2001).

2.4 Erregerspektrum

Wie in Tabelle 1 zu sehen werden katheterassoziierten Infektionen hauptsächlich durch koagulase-negative Staphylokokken, vor allem *Staphylococcus epidermidis*, verursacht. Da speziell diese Erregergruppe die Fähigkeit besitzt, sich an die Katheteroberfläche zu haften und so einen Biofilm zu bilden, erschweren sie darüber hinaus die Therapie (Stein et al. 2003). Aber auch Hefepilze, insbesondere *Candida* spp. sowie Enterokokken können eine Katheterinfektion verursachen. Deutlich seltener kommen dagegen gramnegative Bakterien als Erreger vor.

Tabelle 2: Mikrobielle Verursacher von Katheterinfekten/-septikamien (Widmer et al. 2011)

Koagulase-negative Staphylokokken (CNS)	30 - 40 %
<i>S. aureus</i>	5 - 10 %
<i>Enterokokkus</i> spp.	4 - 6 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3 - 6 %
<i>Candida</i> spp.	2 - 5 %
<i>Enterobacter</i> spp.	1 - 4 %
<i>Acinetobacter</i> spp.	1 - 2 %
<i>Serratia</i> spp.	< 1 %

2.5 Diagnostik

2.5.1 Klinische Diagnostik

Katheterassoziierte Infektionen können lokal in der Umgebung der Punktionsstelle und/oder systemisch auftreten. Bei peripheren Kathetern sind Infektionen fast immer leicht zu erkennen. Erste Anzeichen einer lokalen Infektion sind Rötung, entzündliche Sekretion im Bereich der Katheteraustrittsstelle, Ödem und Schmerz entlang des Katheterverlaufs. Diese Krankheitszeichen haben zwar eine hohe Spezifität, ihre Sensitivität ist jedoch zu gering um eine Diagnose zu stellen. Beim zentralen Venenkatheter fehlen diese Symptome meist und nur in weniger als 5 % der Fälle wird eine Infektion lokal sichtbar (Stein et al. 2003; Daschner et al. 2006). Klinische Infektionszeichen wie erhöhte infektionstypische Laborparameter (z.B. CRP-Erhöhung, Leukozytose) und Fieber mit und ohne Schüttelfrost sind aufgrund ihrer geringen Spezifität nicht immer ein sicherer Hinweis für eine Katheterinfektion. Entzündungen oder Eiteraustritt an der Kathetereinstichstelle haben zwar eine höhere Spezifität, ihre Sensitivität ist aber dennoch gering (Mauch et al. 2007). Eine katheterassoziierte Infektion wird meist nur durch die rasche Entfieberung der Patienten innerhalb weniger Stunden nach Katheterentfernung sichtbar (Mauch et al. 2007). Das zentrale Element der Diagnostik katheterassoziierter Infektionen ist demzufolge der Nachweis einer Kolonisation des Gefäßkatheters (Trautmann et al. 2004). Hierbei unterscheidet man mikrobiologische Methoden, die eine Katheterentfernung voraussetzen, von Methoden, die eine Diagnostik am liegenden Katheter ermöglichen (Daschner et al. 2006).

2.5.2 Mikrobielle Diagnostik am entfernten Katheter

In den letzten Jahren wurden zahlreiche Methoden zur Diagnose einer Katheterinfektion veröffentlicht. Die direkte Untersuchung der Katheterspitze mittels Gramfärbung nach Cooper und Hopkins, die Untersuchung von Katheterblut mittels Acridinorange-Leukozyten-Cytospin-Methode oder die einfache Gramfärbung von Katheterblut sind schnelle, aufgrund der gegenwärtigen Datenlage für die

mikrobiologische Routinediagnostik aber wenig geeignete Methoden (Mauch et al. 2007).

Die derzeit am meisten verbreitete Methode ist die semiquantitative Agar-Roll-Technik nach Maki et al. aus dem Jahr 1977. Die Überlegung von Maki beruht darauf, dass durch das Entfernen der Katheterspitze auch durch mehrmaliges Desinfizieren der Kathetereintrittsstelle eine Kontamination der Spitze mit Hautkeimen nicht ausgeschlossen werden kann. Maki publizierte daher eine Ausrollmethode für zentrale Venenkatheter, bei der ab einem Wachstum von ≥ 15 Kolonien von einer Infektion gesprochen werden kann. Das Ausrollen beinhaltet dabei das viermalige Hin- und Herrollen der 5-7 cm langen Katheterspitze auf einer Blut-Agarplatte, wobei mit einer sterilen Pinzette ein leichter Druck ausgeübt wird und nach Bebrütung eine Koloniezählung erfolgt (Maki et al. 1977).

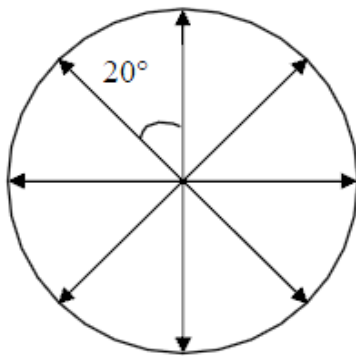


Abbildung 3: Ausrollmethode nach Maki et al. 1977

Bei Kathetern mit einer längeren Liegedauer, bei denen die intraluminale Besiedlung eine größere Rolle spielt, ist die Agar-Roll-Technik weniger sensitiv und quantitative Methoden sind möglicherweise überlegen. Dabei wird die Katheterspitze entweder mit Nährlösung gespült oder mittels Vortex- oder Ultraschallmethode behandelt. Die abgelösten Bakterien werden anschließend quantitativ erfasst, wobei der Nachweis von ≥ 100 KbE/ml (Ultraschallmethode) bzw. ≥ 1000 KbE/ml (Vortex- und Spülmethode nach Cleri et al.) als Schwellenwert für eine Katheterinfektion gilt.

Die Vortex-Methode wurde von Brun-Buisson et al. 1987 publiziert. Hierbei wird die Katheterspitze in eine Flüssigkeit gegeben und mittels „vortexen“ intensiv geschüttelt. Die in die Flüssigkeit übergehenden Bakterien werden anschließend quantitativ erfasst (Brun-Buisson et al. 1987).

Bei der von Cleri et al. 1980 veröffentlichten Methode werden hauptsächlich die Bakterien der Katheterinnenseite betrachtet. Hierbei wird die Katheterspitze mit Hilfe einer Nadel gespült und die abgelösten Bakterien werden ebenfalls quantitativ erfasst (Cleri et al. 1980).

Da der Katheter in ca. 30 % der Fälle ausschließlich auf der Innenseite kolonisiert ist, veröffentlichten Sherertz et al. 1989 die Ultraschallmethode. Sie berücksichtigt sowohl Katheteraußen- und –innenseite, und löst durch den Ultraschall auch am Plastik haftende Bakterien ab und gilt somit zurzeit als die sensitivste Methode (Sherertz et al. 1990).

Eine weitere Methode ist die Gramfärbemethode nach Hopkins. Hierbei werden die Erreger an der Katheterspitze mittels Gramfärbung angefärbt und anschließend mikroskopiert (Cooper et al. 1985).

2.5.3 Mikrobielle Diagnostik am liegenden Katheter

Eine Möglichkeit zur Diagnose einer katheterassoziierten Infektion bei noch liegendem Katheter besteht in der Anwendung der intraluminalen Brushing-Methode von Markus et al. 1989. Hierbei wird eine kleine Bürste bis zur Katheterspitze vorgeschoben, anschließend zurückgezogen und in einer Bouillon quantitativ erfasst. Trotz einer Sensitivität der Methode von >90 % und Spezifität von 84 % konnte sich diese Methode in der Klinik nicht etablieren, da Komplikationen wie Herzrhythmusstörungen und nachfolgende Bakteriämien häufig als Folgen dieser Untersuchung auftraten (Trautmann et al. 2004).

Eine weitere von vielen Autoren beschriebene Methode stellt die quantitative Blutkulturtechnik dar. Bei dieser Methode wird parallel aus einer peripheren Vene

und dem Katheter Blut entnommen und quantitativ, z.B. unter Verwendung des Lysis-Zentrifugationsverfahrens, aufbereitet. Bei diesem Verfahren werden alle humanen Zellen lysiert, anschließend können die Bakterien herunterzentrifugiert und kultiviert werden. Das Vorliegen einer katheterassoziierten Sepsis gilt hierbei als erwiesen, wenn die Koloniezahl pro ml Blut, das über den Katheter gewonnen wird, fünf- bis zehnfach höher ist als die des peripher entnommenen Blutes. Obwohl sie als die zuverlässigste Diagnostikmethode gilt, muss darauf hingewiesen werden, dass sie technisch sehr aufwendig und teuer ist und sich daher in der Routinediagnostik nicht durchgesetzt hat.

Eine Abwandlung dieser letztgenannten Methode stellt die „Difference in time-to-positivity“-Technik nach Blot et al. 1998 dar. Die Genauigkeit der Methode ist vergleichbar mit der quantitativen Aufarbeitung von Blutkulturen, der Aufwand und die Kosten sind jedoch erheblich geringer. Bei dieser Methode werden zeitgleich 5 ml Blut aus einer peripheren Vene und 5 ml Blut aus dem Katheter entnommen und in konventionelle Blutkulturflaschen gefüllt. Bei Vorliegen einer Katheterinfektion wird die über den Katheter gewonnene Blutkultur aufgrund der hier größeren Bakteriendichte früher positiv als die peripher gewonnene. Bei einer Zeitdifferenz von mindestens zwei Stunden beträgt die Sensitivität der Methode 91 %, die Spezifität liegt bei 94 % (Trautmann et al. 2004; Blot et al. 1998; Blot et al. 1999).

2.6 Beschichtete Katheter

Katheterassoziierte Infektionen können trotz Einhaltung aller hygienischen Vorsichtsmaßnahmen nicht in allen Fällen verhindert werden. Durch den Einsatz antimikrobiell beschichteter Katheter wird versucht, eine Senkung des Infektionsrisikos zu ermöglichen. Die Wirksamkeit solcher beschichteten Katheter wird jedoch bis heute diskutiert.

Einen technischen Ansatz stellt die Verwendung antiseptisch und antibiotisch beschichteter Katheter dar. Durch die Beschichtung soll eine Besiedlung des Katheters und die Bildung eines Biofilms durch Mikroorganismen, die durch die

Insertion des Katheters entlang des Stichkanals verschleppt werden, verhindert werden (Trautmann et al. 2004).

Zu den antiseptisch beschichteten Kathetern zählen die Chlorhexidin-Sulfadiazin-(CHSD-)Katheter. Sie sind seit Jahren im Handel erhältlich und bieten während der ersten Woche nach Einlage einen guten Schutz vor Infektionen (Veenstra et al. 1999). Nach dieser Zeit reicht die Beschichtung meist nicht mehr aus, eine Kolonisation wirksam zu verhindern. Durch eine Weiterentwicklung dieser, anfangs nur auf der Außenseite beschichteten Katheter, kommen nun auch Katheter in den Handel, die sowohl außen als auch im Innenlumen beschichtet sind. Die antiseptische Aktivität dieser Katheter ist wesentlich länger als eine Woche nachweisbar und daher für die Klinik besser geeignet (Bassetti et al. 2001).

Wirksamer scheinen jedoch nach wie vor die antibiotisch beschichteten Katheter zu sein. Diese Katheter sollen die Bakterienbesiedlung ohne signifikante Antibiotikaresistenz hemmen. Die Rate der Infektionen ist bei den mit Antibiotika beschichteten Kathetern deutlich und signifikant geringer als bei den CHSD-Kathetern (Darouiche et al. 1999). Bisher getestete Antibiotika für diese Anwendung sind Cefazolin, Minocyclin/Rifampicin, Vancomycin und Teicoplanin (Rupp et al. 2005).

Daneben findet man im Handel auch silberbeschichtete und mit Silberionen besetzte Katheter, die mit der gleichen Intention wie die antiseptisch und antibiotisch beschichteten Katheter entwickelt wurden. Der klinische Nutzen dieser Katheter kann bislang jedoch noch nicht endgültig eingeschätzt werden. Bezüglich Verträglichkeit und dem kurzzeitigen Einsatz liegen positive Studienergebnisse vor. Bei einer längeren Anwendung weisen Studien hingegen auf keine signifikanten Vorteile hin (Daschner et al. 2006).

2.7 Prävention

Angesichts der schwierigen Diagnose und der problematischen Therapie kommt der Prävention von katheterassoziierten Infektionen eine entscheidende Bedeutung zu. Dabei haben sich prophylaktische Maßnahmen als wirkungsvoll erwiesen, das Risiko einer Infektion frühzeitig zu minimieren. Hierbei stehen vor allem das sterile Vorgehen bei der Implantation, das strikte Einhalten möglichst steriler Arbeitsweisen bei jeder Kathetermanipulation sowie die adäquate Pflege der Einstichstelle im Vordergrund. Da die Haut die Hauptinfektionsquelle darstellt, wird den Hygienemaßnahmen eine große Bedeutung zugesprochen. Die Hautdesinfektion der Punktionsstelle erfolgt daher als Vorbereitung mit alkoholischen, jodhaltigen oder anderen antiseptischen Mitteln. Das Tragen von Handschuhen, langen Schutzkitteln sowie eine großräumige sterile Abdeckung um die Kathetereinstichstelle kann das Infektionsrisiko in vielen Fällen zusätzlich halbieren (Mermel et al 1991). Die Zahl der Infektionen kann auch mit Hilfe von speziell im Umgang mit Gefäßzugängen geschultem Personal, sogenannten Katheterteams, die für das Legen und Pflegen des Katheters zuständig sind, gesenkt werden. Außerdem ist es ratsam, die Anzahl an betreuendem Personal, das mit dem Katheter in Kontakt tritt, so gering wie möglich zu halten (Berenholz et al. 2004; Eggimann et al. 2002; Sherertz et al. 2000). Im Allgemeinen sollte darauf geachtet werden, dass standardisierte Vorgehensweisen und Richtlinien vorliegen und diese eingehalten werden. Ein Katheterwechsel zur Infektionsprophylaxe sollte prinzipiell nur dann erfolgen, wenn die Risiken mechanischer Komplikationen gering sind und eine alternative Einstichstelle vorhanden ist (Berenholz et al. 2004).

3 Materialien und Methoden

3.1 Geräte und Materialien

3.1.1 Geräte

Brutschränke	Kelvitron® t Firma: Heraeus Instruments
	Loading Modell Firma: Memmert
	CO ₂ Incubator BBD 6220 Firma: Heraeus Instruments
Abzug	Hera Safe Firma: Heraeus Instruments
Ultraschallgerät	Transsonic 460/H Firma: Elma®
Gramfärbeautomat	Mirastainer® Firma: EM Science
Ablesegerät für Bunte Reihe	Mini API Firma: Biomérieux
Automatische Identifizierung	VITEK® 2 XL Smart Carrier Station™ Vitek-Karten: GN, GP, YST Firma: Biomérieux

3.1.2 Materialien

Kulturmedien	Columbia-Agar mit 5% Hammelblut (COS) Firma: Biomérieux
	Hirn-Herz-Glucose-Bouillon (HH) Firma: Oxoid
Farben Mirastainer®	Color Gram 2 R1-F Kristallviolett-Oxalat-Lösung
	Corol Gram 2 R2-F Stabilisierte Lugol-PVP-Lösung
	Color Gram 2 R4-F Safarin-Lösung
	Firma: Biomérieux
api® Reihen	api® Coryne
	Firma: Biomérieux
Testkits	MAST ID™ Oxidase Strips Firma: Mast Diagnostics
	ID color Catalase
	Slidex® Staph Plus Firma: Biomérieux
	Glabrata R.T.T. Fumouze® Firma: Fumouze Diagnostics
	MRSA-Screen/ <i>S. aureus</i> Latex Test Firma: Denka Seiken Co., LTD

3.2 Patientenmaterial

Das untersuchte Material stammte dabei aus den 3 Kliniken in Chemnitz: Standort Flemmingstraße, Küchwald, Dresdner Straße sowie den umliegenden Helios-Kliniken Aue, Borna, Leisnig, Schkeuditz und dem Collm Klinikum Oschatz.

In die Studie eingeschlossen wurden dabei alle Patienten, denen zwischen Juni 2011 und August 2011 ein Gefäßkatheter entfernt wurde, für den eine mikrobiologische Untersuchung veranlasst wurde. Dabei ist zu berücksichtigen, dass einige Patienten mehrmals in die Studie eingeschlossen wurden. Das Alter der Patienten reichte von 11 Tagen bis zu 90 Jahren. Das Durchschnittsalter der Patienten lag bei 63,4 Jahren.

3.3 Dokumentation der klinischen Angaben

Die mikrobiologische Untersuchung nach Katheterentfernung wurde durch die behandelnden Ärzte angeordnet. Um die klinischen Daten für diese Studie zu erfassen wurde für jeden eingesendeten Katheter zeitnah ein Fragebogen an den Arzt ausgehändigt (Anlage B1). Um den zeitlichen Aufwand für den Arzt so gering wie möglich zu halten und einen möglichst großen Rücklauf zu erzielen, wurde dieser nach 14-tägigem Studienzeitraum abgeändert (Anlage B2).

Der Fragebogen beinhaltete dabei nunmehr folgende Parameter

- Name und Geburtsdatum des Patienten
- Auffälligkeiten an der Punktionsstelle ja/nein
- Liegedauer des Katheters
- Verwendung eines beschichteten Katheters ja/nein
- Gründe für Katheterwechsel/ -entfernung
- Katheterassoziierte Infektion ja/nein

Darüber hinaus wurden Alter, Geschlecht, Labornummer, Art des Katheters und Art der Station (ITS oder „peripher“) erfasst.

Da es sich um Patientenmaterial handelte und die Ärzte einen schnellen Befund erwarteten, wurden zunächst alle Katheterspitzen routinemäßig nach der üblichen und im Labor schon zuvor etablierten Agar-Roll-Technik nach Maki bearbeitet. Anschließend wurde die Testung nach weiteren Methoden durchgeführt.

3.4 Katheter

Die vorliegende Studie wurde in der mikrobiologischen Abteilung der Zentrums für Diagnostik GmbH am Klinikum Chemnitz durchgeführt.

Es wurden 378 Katheterspitzen anhand zweier Methoden untersucht. Für die klinischen Auswertungen konnten aufgrund fehlender Fragebögen jedoch nur 184 Katheterspitzen betrachtet werden.

Wie Abbildung 4 zu entnehmen, handelte es sich in 287 Fällen um zentrale Venenkatheter, in 26 Fällen um Dialysekatheter, in 25 Fällen um arterielle Katheter, in 9 Fällen um eine Drainage-Katheter und in 3 Fällen um Hirndrucksonden. Bei 28 Katheterspitzen wurde aufgrund der fehlenden Angaben des Arztes auf eine Spezifizierung verzichtet.

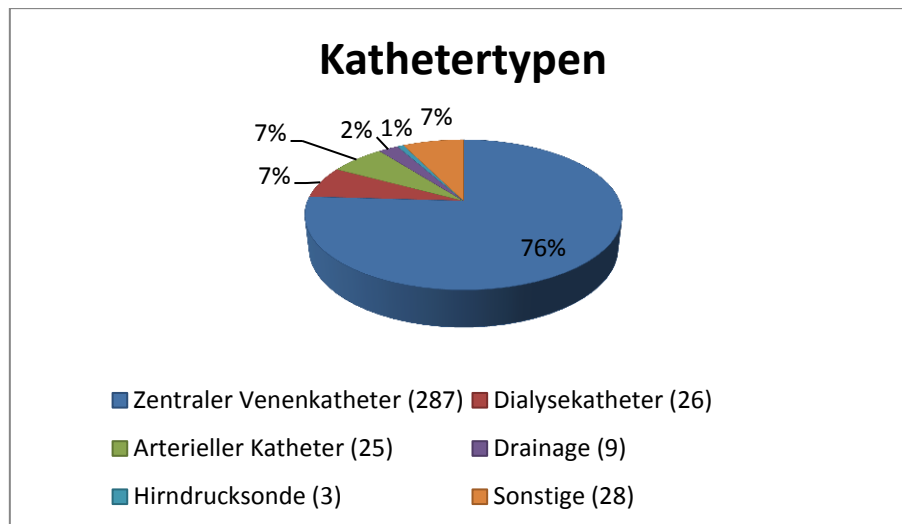


Abbildung 4: Verteilung der Kathetertypen

Die Entscheidung für eine Katheterentfernung wurde durch die behandelnden Ärzte getroffen. Die Liegedauer betrug dabei im Schnitt 11 Tage. Die Gründe für das Entfernen der Katheter können Abbildung 5 entnommen werden. Entweder wurde der Katheter nicht länger benötigt (Beendigung der Therapie, keine Medikation mehr nötig), es traten Infektionszeichen an der Eintrittsstelle auf (Rötung, Sekret) bzw. bestand der Verdacht einer katheterassoziierten Sepsis (Fieber, Anstieg ICP), es lag eine Fehlfunktion wie Verstopfung vor oder es erfolgte ein routinemäßiger Wechsel des Katheters.

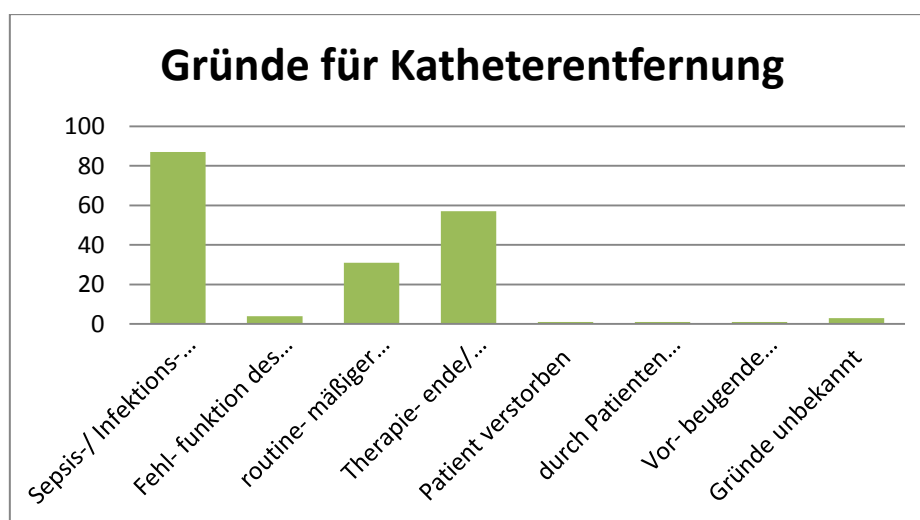


Abbildung 5: Gründe für Katheterentfernung

3.5 Methoden

3.5.1 Agar-Roll-Technik nach Maki et al. 1977

Im Labor wurden wie bereits erwähnt zunächst alle 378 Katheterspitzen nach der semiquantitativen Agar-Roll-Technik nach Maki kultiviert. Die Katheterspitze wurde auf 5 cm gekürzt, auf eine Columbiablutagarplatte gegeben und viermal hin- und hergerollt und dabei jeweils um 20° gedreht (Abb.: 3).

Die Bebrütung der Agarplatte erfolgte anschließend für 48 Stunden bei 37 °C. Daraufhin wurde die Zahl der koloniebildenden Einheiten bestimmt und eine Erregerdifferenzierung mittels Vitex® 2 oder ggf. API durchgeführt.

Dabei war zu beachten, dass bei Hautflora (koagulasenegativen Staphylokokken) erst ab einer KbE-Zahl ≥ 15 von einem Infektionsverdacht gesprochen und eine Identifizierung durchgeführt wurde. Bei einer KbE-Zahl < 15 wurde das Ergebnis notiert, eine Keimidentifikation erfolgte in diesem Falle nicht. Beim Wachstum von klinisch relevanten Erregern erfolgte in jedem Fall eine Identifizierung.

Nach Durchführung dieser semiquantitativen Methode im Routinebetrieb des Labors durch die technischen Mitarbeiter wurden die Katheterspitzen bis zur Durchführung einer der nachfolgenden Methode bei 2-8 °C aufbewahrt.

3.5.2 Voruntersuchungen

Um mögliche Auswirkungen des Ausrollens auf die Anzahl der Kolonien nachvollziehen zu können, wurden anfangs 19 Katheterspitzen viermal hintereinander nach Maki ausgerollt. Anschließend wurde eine Keimzählung sowie Erregeridentifizierung durchgeführt.

3.5.3 Ultraschall-Methode nach Sherertz et al. 1990

101 Katheterspitzen wurden zusätzlich mithilfe der Ultraschallmethode nach Sherertz mikrobiologisch untersucht. Jede Katheterspitze wurde steril aus dem Transportbehälter entnommen, mittels einer sterilen Schere in 3 Abschnitte zu je 2 cm geschnitten und in 10 ml Hirn-Herz-Bouillon gegeben. Nach der Behandlung mit Ultraschallwellen (55.000 Hz, 125 W) für 60 Sekunden und 15 Sekunden vortexen wurden 0,1 ml der Hirn-Herz-Bouillon entnommen und 1:100 verdünnt. Jeweils 0,1 ml der Verdünnung und 0,1 ml der unverdünnten Bouillon wurden auf je eine Columbiablutagarplatte ausgespatelt. Die Platten sowie die Bouillons wurden für 48 Stunden bei 37 °C in mit 5 % CO₂ angereicherter Atmosphäre bebrütet. Anschließend wurde auch hier eine Auszählung und Identifizierung der isolierten Erreger vorgenommen.

Nach Einberechnung der Verdünnung konnte anschließend eine quantitative Aussage über die KbE/ml getroffen werden.

3.5.4 Vortexmethode nach Brun-Buisson et al. 1987

145 Katheterspitzen wurden zusätzlich mithilfe der Methode von Brun-Buisson et al. kultiviert. Dabei wurde die auf 5 cm gekürzte Katheterspitze in ein Reagenzglas gegeben, mit 1 ml sterilem Wasser beträufelt und mittels vortexen 1 Minute intensiv geschüttelt. 0,1 ml der Suspension wurden daraufhin auf eine Columbiablutagarplatte pipettiert und ausgestrichen. Die Agarplatte wurde bei 37°C 48 Stunden in mit 5 % CO₂ angereicherter Atmosphäre bebrütet.

Anschließend erfolgte eine Identifizierung und Auszählung aller Kolonietypen. Nach Einberechnung der Verdünnung (1:10) konnte man daraufhin eine quantitative Aussage über die KbE/ml treffen.

3.5.5 Bouillonmethode

Mit der Bouillonmethode wurden zusätzlich 87 Katheterspitzen untersucht. Hierbei wurden die Katheterspitzen in 10 ml Hirn-Herz-Bouillon gegeben und 48 Stunden bei 37 °C bebrütet. Klare Bouillons, die kein Keimwachstum zeigten wurden verworfen, von den trüben Bouillons wurden 0,1 ml auf eine Columbiablutagarplatte pipettiert, ausgestrichen und weitere 48 Stunden bei 37 °C in mit 5 % CO₂ angereicherter Atmosphäre bebrütet.

Daraufhin erfolgte auch hier eine Auszählung und Identifizierung aller gewachsenen Erreger.

3.5.6 Gramfärbemethode nach Cooper und Hopkins 1985

Bei 4 Katheterspitzen folgte eine Untersuchung mittels Gramfärbung. Hierzu wurde die feuchte Katheterspitzen 5 Minuten an der Luft getrocknet und geronnenes Blut mittels einer Pinzette oder einem Draht entfernt. Für die Gramfärbung wurden Eppendorf-Gefäße mit gefilterter Kristallviolett-Oxalat-Lösung, stabilisierte Lugol-PVP-Lösung und Safarin-Lösung befüllt. Jede Katheterspitze wurde zunächst für 10 Sekunden in Kristallviolett-Oxalat-Lösung getaucht, dann mit sterilem Wasser gewaschen, im zweiten Schritt für 10 Sekunden in Lugol-PVP-Lösung getaucht und erneut mit sterilem Wasser gewaschen, drittens mittels 96 %-igem Ethanol entfärbt, wiederum gewaschen und schließlich für 10 Sekunden in Safarin-Lösung getaucht um abschließend ein letztes Mal mit sterilem Wasser gewaschen zu werden. Um Kontaminationen zu vermeiden, wurden sowohl die Gefäße als auch die Lösungen nach jeder Färbung einer Katheterspitze verworfen. Die gefärbten Katheterspitzen wurden auf Filterpapier getrocknet und anschließend mithilfe von Klebeband auf einem Objektträger befestigt. Auf die Katheterspitze wurden einige Tropfen Mikroskopie-Öl gegeben und anschließend unter einem herkömmlichen Lichtmikroskop mikroskopiert (Cooper et al. 1985).

3.5.7 Eigen, rationell verbesserte Methode

22 Katheterspitzen wurden mittels einer eigen zusammengestellten Methode untersucht. Dabei wurde die Katheterspitze mit einer sterilen Schere in 5 Abschnitte zu je 1 cm geschnitten und in 5 ml Hirn-Herz-Bouillon gegeben. Nach 60 Sekunden vortexen wurden 0,1 ml der Bouillon auf einer Columbiablutagarplatte ausgestrichen und 48 Stunden bei 37 °C mit 5 % CO₂ inkubiert. Die Bouillon wurde ebenfalls 48 Stunden bei 37 °C bebrütet, wobei jedoch bereits nach 24 Stunden eine Ablesung erfolgte. Bei Trübung der Bouillon wurde mittels einer Impföse 0,1 ml auf eine Columbiablutagarplatte ausgestrichen und 48 Stunden bei 37 °C mit 5% CO₂ bebrütet.

Danach erfolgte eine Auszählung der gewachsenen Mikroorganismen mit anschließender Erregerdifferenzierung sowie ein Vergleich zwischen den auf beiden Columbiablutagarplatten gewachsenen Erregern.

3.5.8 Erregeridentifikation

Bei allen Methoden folgte anschließend eine Erregerzählung. Bei Erregerwachstum wurde mittels Vitek® 2 oder ggf. API eine Erregeridentifizierung angeschlossen.

3.5.9 Berechnung von Sensitivität und Spezifität

Für die Beurteilung der Güte einer Methode zur Diagnose einer katheterassoziierten Infektion wurde jeweils Sensitivität und Spezifität der Methode ermittelt. Dazu wurde die Vorhersage der jeweiligen Methode mit einem sogenannten Goldstandard verglichen. Ein Goldstandard ist dabei die gegenwärtig zuverlässigste Methode zur Diagnose der Krankheit. Im ersten Teil dieser Studie wurde die Agar-Roll-Technik als Goldstandard zur Bewertung von Ultraschall-, Vortex- und Bouillonmethode herangezogen. Bei der Bewertung der eigen zusammengestellten Methode sowie der Agar-Roll-Technik, Ultraschall-, Vortex- und Bouillonmethode wurde anschließend die klinische Angabe des Arztes als Goldstandard benutzt.

Für die Berechnungen der Sensitivität bzw. Spezifität der einzelnen Methoden wurde anschließend die in Abbildung 6 dargestellte Vierfeldertafel benutzt.

		Goldstandard		
		Krankheit		
		liegt vor	liegt nicht vor	
Neues Diagnose- verfahren	Krankheit liegt vor (positives Testergebnis)	richtig positiv a	falsch positiv b	alle Test-Positiven a+b
	Krankheit liegt nicht vor (negatives Testergebnis)	c falsch negativ	d richtig negativ	c+d alle Test-Negativen
		a+c alle Erkrankten	b+d alle Gesunden	N alle Untersuchten

Abbildung 6: Allgemeine Darstellung einer Vierfeldertafel in einer Diagnosestudie (Schwarzer et al. 2002)

Die Sensitivität wurde durch den Anteil der richtig positiv diagnostizierten innerhalb der Erkrankten, also durch $a / (a+c)$ und die Spezifität durch die richtig negativ diagnostizierten innerhalb der Gesunden, also durch $d / (b+d)$ berechnet.

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der Voruntersuchungen

Anhand des mehrmaligen Ausrollens einer Katheterspitze konnte festgestellt werden, dass das Bakterienwachstum mit jedem Ausrollschritt abnimmt. Die einzelnen Werte sind dabei in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 3: Wachstum nach 4-maligem Ausrollen (kw=kein Wachstum)

Labornr.	Art des Katheters	1. Ausrollen	2. Ausrollen	3. Ausrollen	4. Ausrollen
V1109775	ZVK	<15	15	8	7
V1109796	ZVK	kw	kw	kw	kw
V1109737	ZVK	kw	kw	kw	kw
V1109747	ZVK	kw	kw	kw	kw
AV104860	ZVK	<100	<100	<100	<100
LV113869	ZVK	kw	kw	kw	kw
LV113895	ZVK	<15	8	kw	kw
V1109867	ZVK	kw	kw	kw	kw
V1109874	ZVK	>100	>100	>100	>100
V1109883	Dialysekatheter	kw	kw	kw	kw
AV104901	Dialysekatheter	kw	kw	kw	kw
AV104902	ZVK	kw	kw	kw	kw
AV106182	ZVK	>100	>100	>100	>100
V1112239	ZVK	kw	kw	kw	kw
V1112240	Sonstiger	kw	kw	kw	kw
V1112284	ZVK	>100	>100	>100	50
V1112285	ZVK	<15	kw	kw	kw
V1112237	Dialysekatheter	>100	>100	>100	50
V1112318	ZVK	>15	15	kw	kw

4.2 Keimzählung und Erregeridentifikation

Anhand der Agar-Roll-Technik nach Maki et al. wurden 378 Katheter mikrobiologisch untersucht. Von den 145 Kultur-positiven Kathetern konnten 159 Erreger isoliert werden (Tabelle 3). Dabei handelte es sich bei 97 Stämmen um koagulase-negative Staphylokokken. Bei 11 Isolaten wurde aufgrund der geringen KbE auf eine Erregeridentifikation verzichtet; bei den restlichen 86 Isolaten war die Verteilung wie folgt: *Staphylococcus epidermidis* 70, *Staphylococcus haemolyticus* 8, *Staphylococcus hominis* 5, *Staphylococcus warneri* 2, *Staphylococcus schleiferi* 1. Die Verteilung der 10 Hefe-Isolate war wie folgt: *Candida albicans* 6, *Candida parapsilosis* 1, *Candida tropicalis* 2, *Candida lipolytica* 1.

Tabelle 4: Erregerverteilung Agar-Roll-Technik

Organismus	Anzahl Isolate	Verteilung in %
Koagulase-negative Staphylokokken	97	61,x
Hefen	10	6,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	5,7
MRSA	7	4,4
<i>Enterococcus faecalis</i>	9	5,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	3,1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	1,3
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	0,6
<i>Enterobacter cloacae</i>	6	3,8
<i>Escherichia coli</i>	1	0,6
<i>Serratia marcescens</i>	2	1,3
<i>Proteus mirabilis</i>	1	0,6
<i>Proteus vulgaris</i>	1	0,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	1,3
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0,6
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	0,6
Korynebakterien	3	1,9
vergrünende Streptokokken	1	0,6

Bei 132 Kathetern (34,9 %) wuchs ein Erreger in Reinkultur, bei 12 (3,2 %) war eine Mischkultur, bestehend aus 2 unterschiedlichen Erregern, vorhanden und bei einem (0,3 %) eine Mischkultur aus 3 unterschiedliche Erreger. Die Anzahl der KbE ist Tabelle 4 zu entnehmen.

Tabelle 5: Wachstum Agar-Roll-Technik

KbE	0	< 15	≥ 15	> 100
Anzahl der Katheter	234	28	42	75

Anhand der Ultraschallmethode wurden 101 Katheterspitzen auf eine mögliche Infektion hin getestet. Die Bouillon trübte sich in 84 Fällen, wovon jedoch nur auf 39 Agarplatten ein Wachstum zu verzeichnen war. Insgesamt wurde bei 62 (61 %) der getesteten Katheter kein Wachstum verzeichnet. Bei 36 (36 %) wuchs der Erreger in Reinkultur und bei 3 Kathetern (3 %) wuchs eine Mischkultur, bestehend aus zwei Erregern.

12 Katheter zeigten ein Wachstum von $\geq 10^3$ KbE/ml und 27 ein Wachstum von $< 10^3$ KbE/ml. Dabei handelte es sich wie in Tabelle 5 abgebildet, vorwiegend um koagulase-negative Staphylokokken. Die Verteilung der koagulase-negativen Staphylokokken war dabei: *Staphylococcus epidermidis* 28, *Staphylococcus hominis* 1.

Tabelle 6: Erregerverteilung Ultraschallmethode

Organismus	Anzahl Isolate	Verteilung in %
Koagulase-negative Staphylokokken	29	69,0
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	9,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	4,8
MRSA	2	4,8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	4,8
<i>Serratia marcescens</i>	1	2,4
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	2,4
Korynebakterien	1	2,4

Anhand der Vortexmethode wurden 145 Katheter auf eine katheterassoziierte Infektion getestet. 85 Katheter (58,6 %) zeigten kein mikrobielles Wachstum, 54 (37,2 %) ein Wachstum von einem Erreger, 5 Katheter (3,4 %) von zwei und ein Katheter (0,7 %) von drei verschiedenen Erregern.

22 Katheter zeigten dabei ein Erregerwachstum von $\geq 10^3$ KbE/ml und 38 Katheter von $< 10^3$ KbE/ml.

Insgesamt wurden 13 verschiedene Erreger isoliert, die der Tabelle 6 entnommen werden können. Am häufigsten wurden koagulase-negative Staphylokokken und *Staphylococcus aureus* isoliert. Bei den koagulase-negativen Staphylokokken wurde nur bei 27 eine Identifizierung durchgeführt, diese ergab: *Staphylococcus epidermidis* 23, *Staphylococcus hominis* 4. Bei 11 Kathetern war die Zahl der KbE/ml so gering, dass keine Identifizierung durchgeführt wurde.

Tabelle 7: Erregerverteilung Vortexmethode

Organismus	Anzahl Isolate	Verteilung in %
Koagulase-negative Staphylokokken	38	56,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	13,4
<i>Candida albicans</i>	4	6
<i>Enterococcus faecalis</i>	4	6
<i>Korynebakterien</i>	4	6
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	3
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1,5
MRSA	1	1,5
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1,5
Mikrokokken	1	1,5
Gram-negative Stäbchen	1	1,5

Mithilfe der Bouillonmethode wurden 87 Katheter auf eine katheterassoziierte Infektion getestet. Bei 46 (52,9 %) Kathetern blieb die Bouillon klar und es war kein Bakterienwachstum zu verzeichnen. 54 Katheter trübten die Bouillon nach 48-stündiger Bebrütung. Nach Ausstreichen der Bouillon konnte bei 41 Kathetern ein Wachstum von $\geq 10^3$ KbE/ml verzeichnet werden. Dabei zeigten 39 (44,8 %) Katheter das Wachstum von je einem Erreger und 2 (2,3 %) Katheter von jeweils 2 verschiedenen Erregern.

Insgesamt konnten 14 verschiedene Erreger isoliert werden. Der Tabelle 7 können die Verteilungen der einzelnen Erreger entnommen werden. Auch hier konnten in den meisten Fällen (70%) koagulase-negative Staphylokokken isoliert werden. Die Verteilung der Isolate war dabei wie folgt: *Staphylococcus epidermidis* 20, *Staphylococcus hominis* 2, *Staphylococcus haemolyticus* 2, *Staphylococcus warneri* 1. Aufgrund geringer Koloniezahlen wurde auch hier bei 5 Erregern auf eine Identifizierung verzichtet. Die Verteilung der 3 isolierten Hefen war wie folgt: *Candida albicans* 1, *Candida parapsilosis* 1, *Candida tropicalis* 1.

Tabelle 8: Erregerverteilung Bouillonmethode

Organismus	Anzahl Isolate	Verteilung in %
Koagulase-negative Staphylokokken	30	70
Hefen	3	7
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	4,6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	4,6
MRSA	2	4,6
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	2,3
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	2,3
<i>Serratia marcescens</i>	1	2,3
vergrünende Streptokokken	1	2,3

4.3 Validierung der Methoden mit Hilfe der Agar-Roll-Technik

Der Abbildung 7 können jeweils die Übereinstimmung bzgl. des Erregerwachstums von der hier als Goldstandard geltenden Agar-Roll-Technik und einer der Vergleichsmethoden (Ultraschall-, Vortex-, Bouillonmethode) entnommen werden.

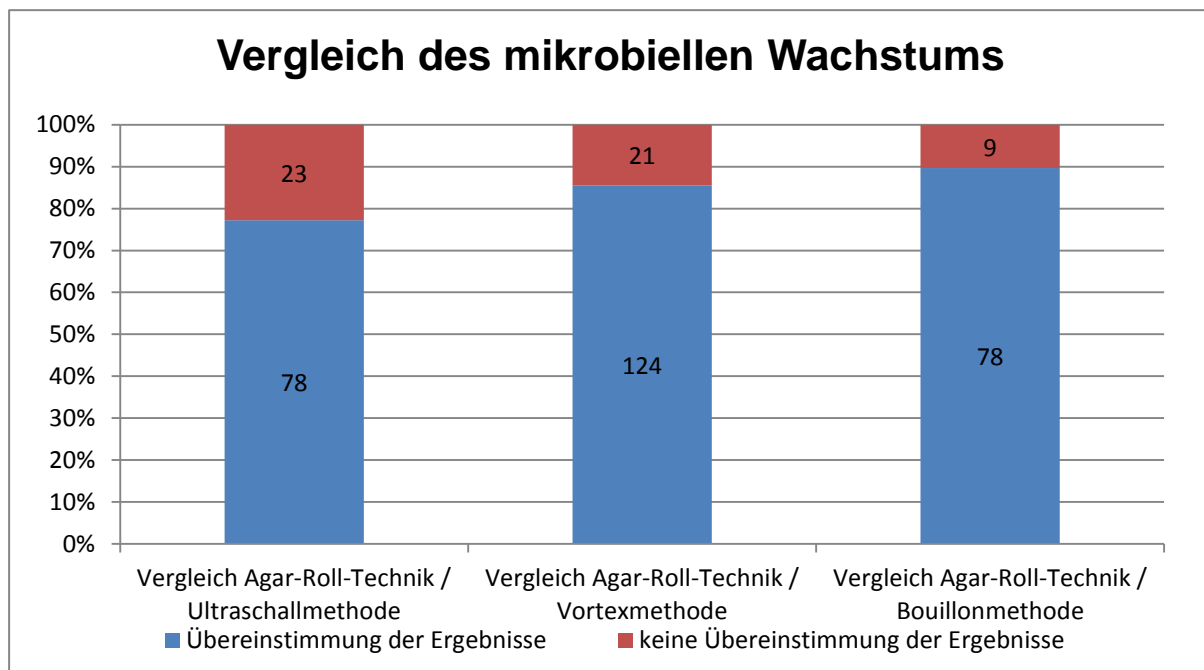


Abbildung 7: Vergleich des mikrobiellen Wachstums zwischen Agar-Roll-Technik und Ultraschall-, Vortex- und Bouillonmethode

Beim Vergleich der Agar-Roll-Technik mit der Ultraschallmethode bezüglich des mikrobiellen Wachstums konnte in 77,2 % eine Übereinstimmung der Ergebnisse festgestellt werden. Bei der Vortexmethode waren es 85,5 % und bei der Bouillonmethode 89,7 %. Dabei setzten sich die Übereinstimmungen und Abweichungen wie in Tabelle 9 dargestellt zusammen.

Tabelle 9: Übereinstimmungen und Abweichungen beim Vergleich mit der Agar-Roll-Technik; A: mikrobielles Wachstum bei beiden Methoden, B: kein mikrobielles Wachstum bei beiden Methoden, C: mikrobielles Wachstum bei der Agar-Roll-Technik und kein mikrobielles Wachstum bei der Vergleichsmethode, D: mikrobielles Wachstum bei der Vergleichsmethode und kein mikrobielles Wachstum bei der Agar-Roll-Technik

	Anzahl der Katheterspitzen bei Vergleich mit folgenden Methoden:					
	Ultraschallmethode		Vortexmethode		Bouillonmethode	
	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%
A	26	25	45	31	34	39
B	52	52	79	54	44	51
C	10	10	7	5	2	2
D	13	13	14	10	7	8

Da die Vermutung einer katheterassoziierten Infektion aufgrund der mikrobiologischen Untersuchung vor allem von der Anzahl der KbE/ml abhängt, wurde anschließend die Zahl der Infektionen laut den Definitionen der jeweiligen Methode erfasst. Die Ergebnisse der Agar-Roll-Technik galten hierbei als Referenz. Die Übereinstimmungen und Abweichungen der Ergebnisse können Abbildung 8 entnommen werden.

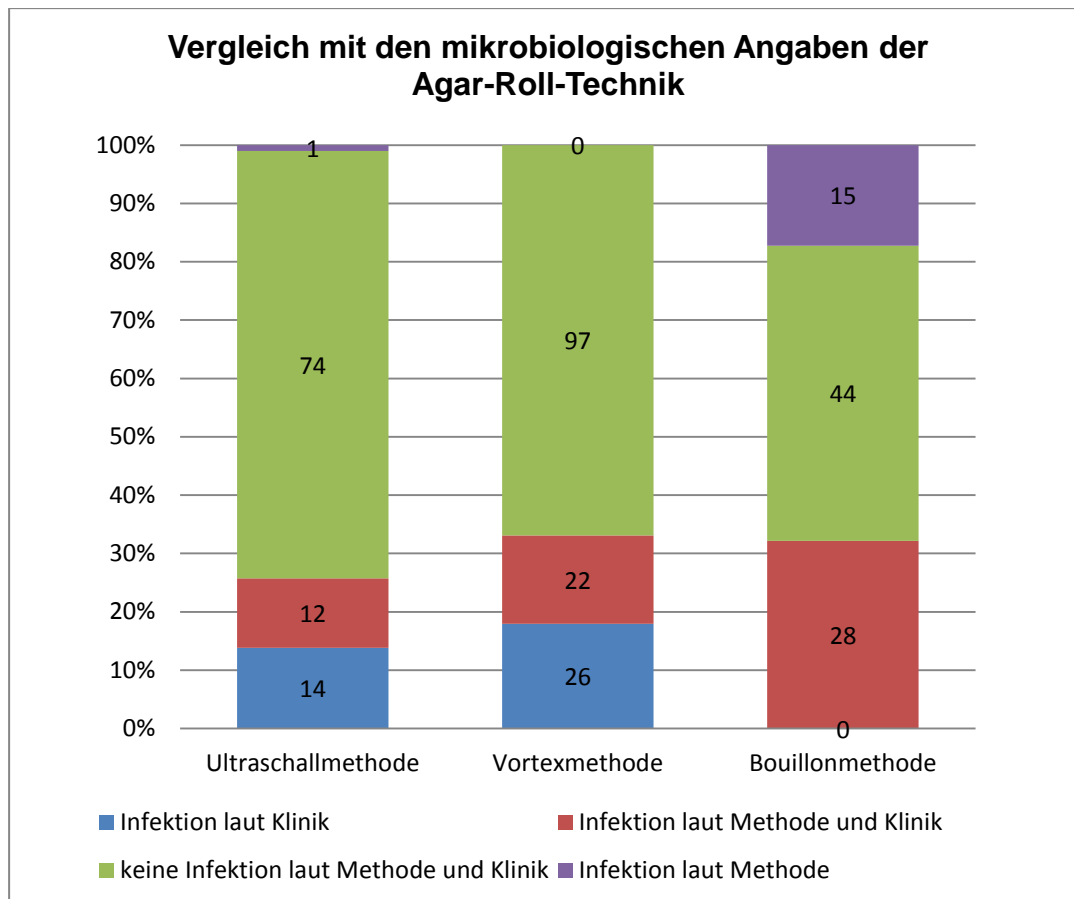


Abbildung 8: Infektionsübereinstimmungen beim Vergleich mit der Agar-Roll-Technik

Von den 101 entfernten Katheterspitzen lag laut Agar-Roll-Technik in 26 Fällen eine Infektion vor. Bei 12 dieser Fälle konnte dies durch die Ultraschallmethode bestätigt werden. Bei 75 Kathetern konnte eine solche Infektion ausgeschlossen werden. In 74 dieser Fälle konnte dies auch anhand der Ultraschallmethode bestimmt werden. Sensitivität und Spezifität dieser Methode ließen sich somit mit 46,2 % bzw. 98,7 % ermitteln.

Von den 145 Kathetern handelte es sich in 48 Fällen um eine nachgewiesene katheterassoziierte Infektion. In 22 dieser Fälle konnte dies anhand der Vortexmethode bestätigt werden. In 97 Fällen konnte eine derartige Infektion ausgeschlossen werden. In allen dieser Fälle ermittelte dies auch die Vortexmethode. Sensitivität und Spezifität für den Nachweis einer katheterassoziierten Infektion ließen sich somit mit 47,8 % bzw. 100 % ermitteln.

Bei der Bouillonmethode wurden 87 Katheter untersucht. Bei 28 Kathetern handelte es sich um eine katheterassoziierte Infektion. In allen dieser Fälle lag eine solche Infektion auch laut Bouillonmethode vor. In 59 Fällen ließ sich eine solche Infektion ausschließen. In 15 dieser Fälle bestand laut Ultraschallmethode jedoch ein Hinweis auf eine katheterassoziierte Infektion. Sensitivität und Spezifität ließen sich somit mit 100 % bzw. 34,1 % errechnen.

4.4 Ergebnisse der klinischen Angaben

Um die mikrobiologischen Ergebnisse der einzelnen Methoden auch klinisch überprüfen zu können, wurden an die behandelnden Ärzte Fragebögen ausgehändigt. Von 378 versendeten Fragebögen wurden 184 in die mikrobiologisch Abteilung zurückgesandt. Bei 29 war eine katheterassoziierte Infektion klinisch gesehen fraglich, bei 38 Kathetern handelte es sich laut klinischen Angaben um eine katheterassoziierte Infektion und bei 117 konnte eine solche Infektion vom Arzt ausgeschlossen werden. Da nicht von allen mikrobiologisch untersuchten Katheterspitzen eine verwendbare klinische Angabe vorlag, konnten von der Agar-Roll-Technik lediglich 41,0 %, der Ultraschallmethode 55,4 %, der Vortexmethode 36,5 %, der Bouillonmethode 39,1 % und der eigen zusammengestellten Methode 31,8 % der Katheterspitzen für diese Auswertung herangezogen werden.

4.5 Ergebnisse der eigen zusammengestellten Methode

Anhand der eigen zusammengestellten Methode wurden 22 Katheter auf das Vorliegen einer katheterassoziierten Infektion hin getestet. Die Bouillons trübten sich in 19 Fällen. Ein Erregerwachstum konnte bei 7 Katheterspitzen (31,8 %) mit $>10^3$ KbE/ml verzeichnet werden. Bei 15 Katheterspitzen (68,2 %) konnte mikrobiologisch kein Wachstum verzeichnet werden.

Die Verteilung der Erreger ist Tabelle 10 zu entnehmen. Bei den koagulase-negativen Isolaten handelte es sich um *Staphylococcus epidermidis*.

Tabelle 10: Erregerverteilung der eigen zusammengestellten Methode

Organismus	Anzahl Isolate	Verteilung in %
Koagulase-negative Staphylokokken	5	70
<i>Candida albicans</i>	1	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	4,6

Bei dieser Methode konnten von den 22 getesteten Katheterspitzen 9 anhand vorliegender Fragebögen zur Auswertung der Ergebnisse herangezogen werden. Auch hier wurde die Anzahl aufgrund 2 klinisch fraglicher Angaben auf 7 reduziert. Die klinischen Angaben dienten als Referenz für alle weiteren Betrachtungen.

Von den 7 Gefäßkathetern zeigten 5 kein Wachstum an der Katheterspitze. In 2 dieser Fälle bestanden keine klinischen Hinweise auf eine katheterassoziierte Infektion. 2 Katheter zeigten ein Wachstum von $\geq 10^3$ KbE/ml. In keinem dieser Fälle ließ sich klinisch eine katheterassoziierte Infektion nachweisen. Umgekehrt zeigte sich bei 3 infizierten Patienten kein Wachstum am Katheter.

Sensitivität und Spezifität für den Nachweis einer katheterassoziierten Infektion ließen sich aufgrund der geringen Anzahl von nur 7 Kathetern nicht bestimmen.

4.6 Überprüfung der Methoden mit Hilfe klinischer Angaben

Anhand der vorliegenden Fragebögen konnte nun eine klinische Überprüfung der mikrobiologischen Ergebnisse durchgeführt werden. Die klinische Angabe des Arztes galt bei den weiteren Betrachtungen als Referenz. In Abbildung 9 wurden die Übereinstimmungen und Abweichungen dargestellt.

Dabei ist zu beachten, dass wie bereits erwähnt bei der Agar-Roll-Technik 155 Katheterspitzen, bei der Ultraschallmethode 56, bei der Vortexmethode 53 und bei der Bouillonmethode 34 Katheterspitzen ausgewertet wurden.

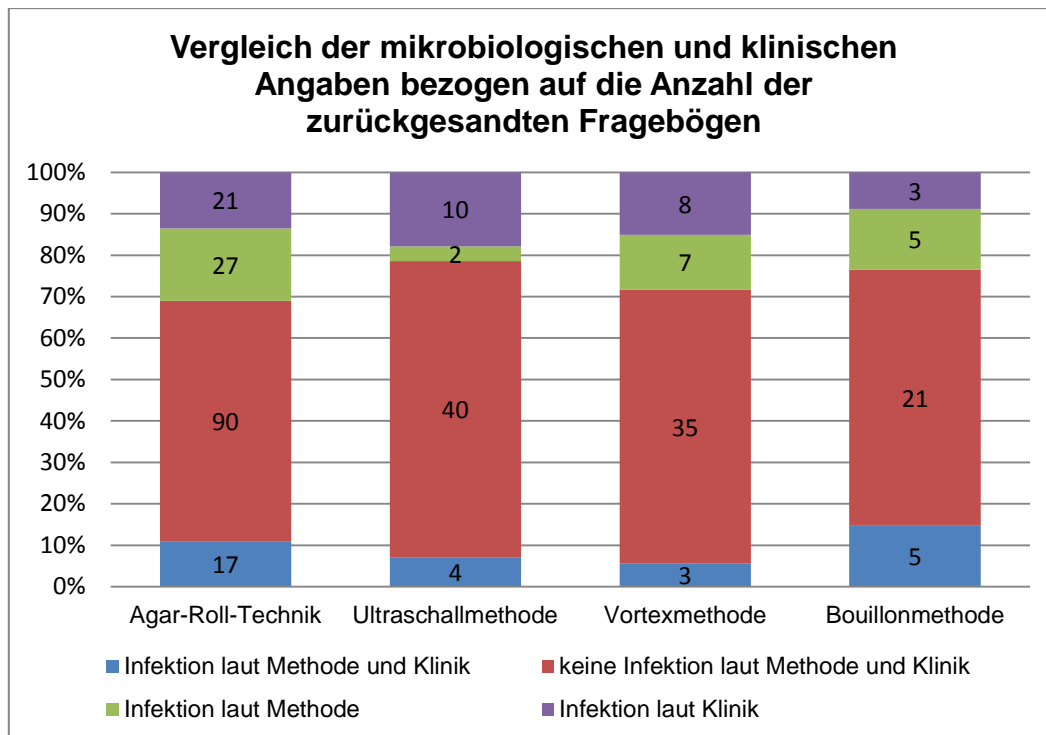


Abbildung 9: Vergleich der mikrobiologischen und klinischen Angaben bezogen auf die Anzahl der zurückgesandten Fragebögen

Agar-Roll-Technik nach Maki

Mit Hilfe der Agar-Roll-Technik nach Maki konnten von den mikrobiologisch getesteten 378 Katheterspitzen insgesamt 184 für den Vergleich der mikrobiologischen und klinischen Angaben verwendet werden.

Bei 29 der 184 Katheterspitzen war das Vorliegen einer derartigen Infektion laut Fragebogen fraglich, wodurch die ermittelten Ergebnisse nach Maki nicht zur Auswertung berücksichtigt werden konnten. Die Zahl der einbezogenen Katheterspitzen sank damit auf 155.

Von den 155 Kathetern zeigten 111 ein Wachstum von < 15 Kolonien an der Katheterspitze. In 90 dieser Fälle lagen keine klinischen Hinweise auf eine katheterassoziierte Infektion vor. 44 Katheter zeigten hingegen ein Wachstum von ≥ 15 Kolonien. In 17 dieser Fälle ließ sich gleichzeitig auch klinisch eine solche Infektion nachweisen. Umgekehrt zeigten die Katheter von 21 Patienten, mit

klinischen Anzeichen einer katheterassoziierten Infektion, kein Wachstum oberhalb des Grenzwertes von 15 Kolonien. Die Sensitivität der Agar-Roll-Technik für den Nachweis einer katheterassoziierten Infektion ließ sich somit mit 44,7 % und die Spezifität mit 76,9 % errechnen.

Ultraschallmethode nach Sherertz

Für die 101 anhand der Ultraschallmethode nach Sherertz getesteten Katheterspitzen lagen schließlich für 62 Katheterspitzen klinische Angaben bzgl. einer Infektion vor. Bei 6 der 62 Katheterspitzen konnte eine Katheterinfektion klinisch gesehen nicht eindeutig festgestellt werden, sie wurden daher bei den weiteren Ergebnissen nicht mit angerechnet. Die Anzahl der berücksichtigten Katheterspitzen sank dadurch auf 56.

Von den 56 Gefäßkathetern zeigten 50 ein Wachstum von $< 10^3$ KbE/ml, von denen bei 40 Kathetern keine klinischen Hinweise auf eine katheterassoziierte Infektion vorlagen. 6 Katheter zeigten hingegen ein Wachstum von $\geq 10^3$ KbE/ml. Bei 4 dieser Katheter ließ sich eine katheterassoziierte Infektion auch klinisch nachweisen. Die Katheter von 10 Patienten mit klinischen Anzeichen auf eine katheterassoziierte Infektion zeigten hingegen ein Wachstum von $< 10^3$ KbE/ml. Die Sensitivität und Spezifität dieser Methode konnte mit 28,6 % bzw. 95,2 % angegeben werden.

Vortexmethode nach Brun-Buisson

Für 66 der 145 anhand der Vortexmethode getesteten Katheterspitzen lagen letztendlich klinische Angaben in Form der Fragebögen vor. Dabei ist zu berücksichtigen, dass sich diese Anzahl aufgrund der fraglichen klinischen Anzeichen auf 53 reduziert.

Von den 53 entfernten Kathetern zeigten 43 ein Wachstum von $< 10^3$ KbE/ml. In 35 dieser Fälle bestanden keine klinischen Hinweise auf eine katheterassoziierte Infektion. 10 Katheter zeigten ein Wachstum von $\geq 10^3$ KbE/ml. Bei 3 dieser Katheter

konnte eine katheterassoziierte Infektion auch klinisch nachgewiesen werden. Umgekehrt zeigten die Katheter bei 8 infizierten Patienten, kein Wachstum oberhalb des Grenzwertes von $\geq 10^3$ KbE/ml. Die Sensitivität und Spezifität der Vortexmethode ließ sich somit mit 27,3 % bzw. 83,3 % errechnen.

Bouillonmethode

Laut dieser Methode wurden 87 Katheterspitzen getestet, davon konnten vorerst 40 Katheterspitzen anhand vorliegender klinischer Angaben mit in diese Studie einbezogen werden. Diese Anzahl reduzierte sich anschließend aufgrund 6 fraglicher Angaben bezüglich des Vorliegens einer katheterassoziierten Infektion auf 34 Katheterspitzen.

Von den 34 Kathetern zeigten 24 ein Wachstum von $< 10^3$ KbE/ml. In 21 dieser Fälle konnte eine katheterassoziierte Infektion auch klinisch ausgeschlossen werden. 10 Katheter zeigten ein Wachstum von $\geq 10^3$ KbE/ml. Bei 5 dieser Katheter konnte eine katheterassoziierte Infektion anhand der klinischen Angaben nachgewiesen werden. Bei 3 Patienten mit klinischen Anzeichen auf eine katheterassoziierte Infektion zeigten die Katheter hingegen kein Wachstum oberhalb des Grenzwertes von $\geq 10^3$ KbE/ml. Die Sensitivität und Spezifität dieser Methode ließ sich daher mit 62,5 % bzw. 80,8% errechnen.

4.7 Übertragbarkeit der Maki-Methode auf andere Kathetertypen

Um festzustellen, ob die Anwendung der Agar-Roll-Technik über Zentrale Venenkatheter hinaus möglich ist, wurden auch hier die mikrobiologischen mit den klinischen Angaben verglichen. Als Referenz diente hier ebenfalls die klinische Angabe des Arztes. Dabei konnten 39 Katheter der in Abbildung 10 dargestellten Kathetertypen zur Auswertung herangezogen werden.

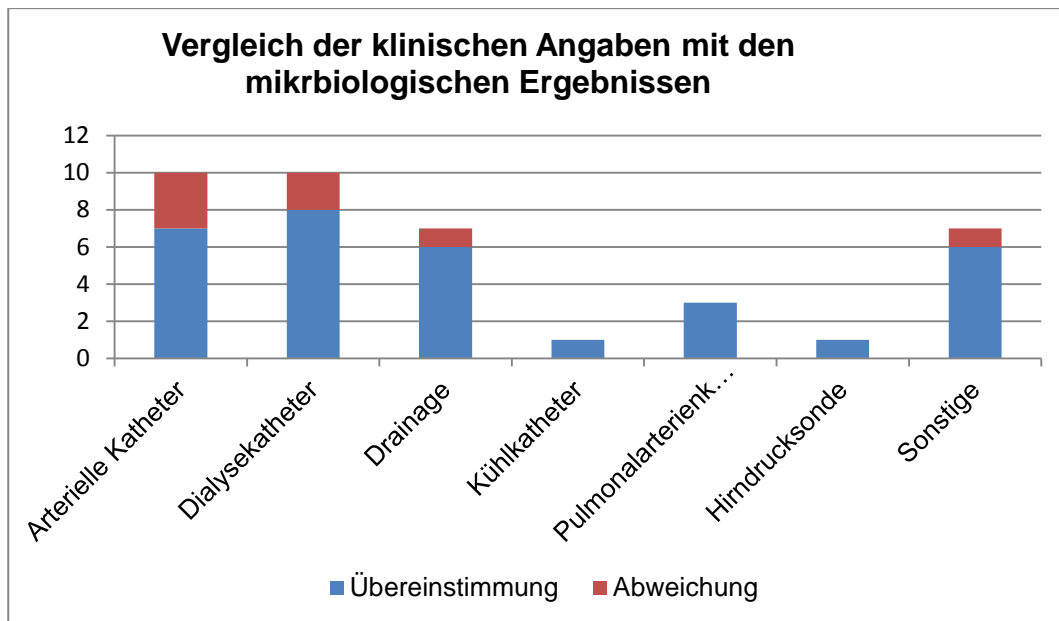


Abbildung 10: Übereinstimmungen und Abweichungen der klinischen und mikrobiologischen Ergebnisse

Von diesen 39 entfernten Kathetern zeigten 31 ein Wachstum von < 15 Kolonien an der Katheterspitze. In 25 dieser Fälle bestanden klinische Hinweise auf eine katheterassoziierte Infektion. 8 Katheter zeigten ein Wachstum von ≥ 15 Kolonien. In 2 dieser Fälle ließ sich ebenfalls klinisch eine katheterassoziierte Infektion nachweisen. Umgekehrt zeigten die Katheter bei 6 infizierten Patienten kein Wachstum oberhalb des Grenzwertes von 15 Kolonien. Sensitivität und Spezifität ließen sich somit mit 50,0 % bzw. 92,6 % errechnen.

Da es sich bei arteriellen, Dialyse- und pulmonal-arteriellen Kathetern wie bei zentralen Venenkathetern um intravaskuläre Katheter handelt, wurden diese anschließend noch einmal separat betrachtet.

Von den 24 intravaskulären Kathetern zeigten 18 ein Wachstum von < 15 Kolonien. In 12 dieser Fälle lagen keine klinischen Hinweise auf eine katheterassoziierte Infektion vor. 6 Katheter zeigten ein Wachstum von ≥ 15 Kolonien und somit Anzeichen für eine katheterassoziierte Infektion, die in allen 6 Fällen auch klinisch bestätigt werden konnten. Die Sensitivität und Spezifität ließ sich somit mit 50,0 % bzw. 100 % errechnen.

Bei den 15 extrazellulären Kathetern zeigten 13 Katheter ein Wachstum von < 15 Kolonien. In allen dieser Fälle lag auch klinisch kein Hinweis für eine katheterassoziierte Infektion vor. 2 Katheter zeigten ein Wachstum von ≥ 15 Kolonien. Eine katheterassoziierte Infektion lag hier aus klinischer Sicht jedoch nicht vor. Die Spezifität für den Nachweis einer katheterassoziierten Infektion ließ sich somit mit 86,7 % errechnen. Die Sensitivität ließ sich hier aufgrund fehlender Ergebnisse nicht berechnen.

5 Diskussion

5.1 Erregerwachstum bei den einzelnen Methoden

Ein Ziel dieser Arbeit war es, verschiedene etablierte Methoden der mikrobiologischen Diagnostik zur Frage einer katheterassoziierten Infektion mit Hilfe der Agar-Roll-Technik bzgl. Sensitivität und Spezifität zu vergleichen. Um eine Bewertung der einzelnen Methoden durchführen zu können, wurden zunächst von allen Katheterspitzen mikrobiologische Kulturen angelegt.

Da diese Studie im laufenden Laborbetrieb durchgeführt wurde, und es sich um für die Klinik relevante Ergebnisse handelte, wurden die Katheterspitzen zu Beginn in der etablierten Laborroutine mit der Standardmethode nach Maki untersucht. Aufgrund dessen, dass so für jeden Katheter ein Vergleichswert vorlag, wurde im ersten Teil dieser Studie die Maki-Methode als Referenz für alle weiteren Methoden herangezogen. Daher musste geklärt werden wie stark sich dieses Ausrollen auf die Koloniezahl am Katheter auswirkt, um dies bei den nachfolgenden Methoden berücksichtigen zu können.

5.1.1 Resultate der Vorbetrachtung

Zu Beginn wurden daher 22 Katheter mehrmals hintereinander ausgerollt. Wie in Tabelle 2 bereits zu sehen war, kann eine Abnahme der Koloniezahl festgestellt werden. Die größten Unterschiede treten jedoch erst zwischen dem 3. und 4. Ausrollen auf. Lediglich in zwei Fällen wuchsen beim 2. Ausrollen keine Kolonien mehr, obwohl die Agar-Roll-Technik zuvor ein Wachstum verzeichnete. Dabei handelte es sich jedoch beim ersten Ausrollen um 15 oder weniger Kolonien. In allen Fällen, bei denen ein Wachstum von mehr als 15 Kolonien anhand der Agar-Roll-Technik ermittelt wurde, wuchsen auch nach nochmaligem Ausrollen mindestens 15 Kolonien. Eine katheterassoziierte Infektion konnte so auch beim zweiten Ausrollen diagnostiziert werden. Alle zusätzlichen Methoden sind quantitative Testmethoden, bei denen ein Wachstum von $\geq 10^3$ KbE/ml als ein Indikator für

katheterassoziierte Infektion galt. Da jeder Katheter vor der zweiten Methode nur einmal ausgerollt wurde, könnte davon ausgegangen werden, dass sich am Katheter noch genügend Bakterien befinden um eine eventuell vorliegende katheterassoziierte Infektion nochmals nachzuweisen. Die geringe Abnahme der Koloniezahl ist für die nachstehenden Methoden daher nicht relevant. Die nachfolgenden Auswertungen vernachlässigen die Abnahme der KbE durch die Referenzmethode nach Maki daher.

5.1.2 Erregernachweis der einzelnen Methoden

Bei den nach der Agar-Roll-Technik nach Maki untersuchten Katheterspitzen lag bei 117 Katheterspitzen ein Wachstum von ≥ 15 Kolonien vor, nach Maki Beweis einer katheterassoziierten Infektion. Bei 5 Kathetern lag das Wachstum unter dieser Marke. Da es sich bei einem Katheter jedoch um Hefen und bei 4 Kathetern um gram-negative Erreger und nicht um Hautflora handelte, wurde auch hier in Übereinstimmung mit Maki von einer katheterassoziierten Infektion gesprochen. Insgesamt wurde mit Hilfe dieser Methode daher bei 122 Kathetern eine katheterassoziierte Infektion nachgewiesen. Bei der Ultraschallmethode nach Sherertz et al. handelte es sich laut Definition bei 12 Kathetern um eine katheterassoziierte Infektion, da ein Wachstum von $\geq 10^3$ KbE/ml überschritten wurde. Bei der Vortexmethode konnte mikrobiologisch bei 22 Kathetern ein Wachstum von $\geq 10^3$ KbE/ml und somit eine katheterassoziierte Infektion nachgewiesen werden. Bei 41 Kathetern konnte mit Hilfe der Bouillonmethode eine derartige Infektion nachgewiesen werden. Die Gramfärbemethode ist hingegen wie schon erwartet nicht praktikabel. Bei den getesteten Katheterspitzen konnten, wie bereits vermutet, mikroskopisch keinerlei Erreger nachgewiesen werden. Gründe hierfür lagen mit hoher Wahrscheinlichkeit an dem Material und der Dicke der Katheterspitzen. Für diese Methode war es deshalb nicht möglich, Ergebnisse bzgl. Sensitivität bzw. Spezifität zu ermitteln.

Der am häufigsten isolierte Erreger war dabei bei allen Methoden der zur Standortflora der Haut gehörende *Staphylococcus epidermidis*, gefolgt von weiteren koagulase-negativen Staphylokokken, *Candida spp.*, *Staphylococcus aureus* und

Enterococcus faecalis. Anhand der Erregerstatistik konnte festgestellt werden, dass bei demselben Katheter durch beide Methoden die gleichen Erreger isoliert werden konnten.

5.2 Beurteilung der eigen zusammengestellten Methode

Die eigen zusammengestellte Methode wurde an 22 Kathetern getestet. Die Aufbereitung der Katheter erfolgte dabei aus einer Kombination von Ultraschall- und Vortexmethode. Ziel dieser Methode war es, die Sensitivität und Spezifität der Ultraschallmethode mit einer einfacheren Handhabung zu erreichen. Es wurde vermutet, dass durch das Zerteilen des Katheters mehr Erreger in die Bouillon gelangten und anschließend kultiviert werden konnten. Aus diesem Grund wurde der Katheter bei dieser Methode ebenfalls zerteilt. Da sich vor allem die einminütige Behandlung mit dem Ultraschallbad sehr zeitaufwändig gestaltete, wurden die Bouillons anschließend nicht mit Ultraschallwellen sondern mit Hilfe eines Vortexers behandelt. Durch das Vortexen konnte ebenfalls eine Ablösung der Erreger erreicht werden, die Behandlung der Katheter war jedoch einfacher und zeitsparender. Hinzu kommt, dass bei der Ultraschallmethode eine Verdünnung durchgeführt wurde, auf die hier aus Zeitgründen ebenfalls verzichtet wurde.

Aufgrund der geringen Anzahl von nur 7 Ergebnissen konnte bei dieser Methode weder eine Aussage über Sensitivität noch über Spezifität getroffen werden. Es konnten somit weder Grenzwerte für eine katheterassoziierte Infektion noch eine Aussage über die Anwendbarkeit in der Routinediagnostik getroffen werden. Um mögliche Grenzwerte zu ermittelt und eine Überprüfung der Sensitivität bzw. Spezifität durchführen zu können, müsste dieser Teil der Studie nochmals und mit umfangreicheren Ergebnissen wiederholt werden. Die Methode wurde daher bei den weiteren Auswertungen nicht mit berücksichtigt.

5.3 Vergleich der Agar-Roll-Technik mit anderen Methoden

Ein Ziel dieser Arbeit war es, verschiedene Methoden zur Diagnostik katheterassoziierter Infektion mit dem Goldstandard von Maki et al. zu vergleichen. Die Agar-Roll-Technik nach Maki et al. gilt als etablierteste Methode und wird auch im Zentrum für Diagnostik als Standardmethoden angewandt. Diese Studie sollte dazu dienen, andere publizierte Methoden mit dieser zu vergleichen um eventuell eine geeignetere Methode für die Routinediagnostik zu finden.

5.3.1 Vergleich bezüglich Kultur-positiver Katheter

Zu Beginn wurden die Methoden untereinander hinsichtlich der Übereinstimmung des Wachstums verglichen. Dabei wurde lediglich darauf geachtet, ob es sich um Kultur-positive oder –negative Katheter handelte, die Anzahl der KbE/ml wurde hierbei noch nicht betrachtet. Dadurch sollte lediglich festgestellt werden, ob sich bereits beim Kultivieren der Katheter größere Unterschiede bei den Methoden herauskristallisierten.

Bei der Gegenüberstellung der Kultur-positiven Katheter der Agar-Roll-Technik mit denen der Vergleichsmethoden, korreliert die Bouillonmethode mit 89,7 % am besten. Anschließend folgen die Vortexmethode mit 85,5 %. Bei der Ultraschallmethode treten hingegen mit einer Übereinstimmung von 77,2 % die größten Unterschiede diesbezüglich auf.

Die Methoden weisen somit bezüglich des Wachstums eine gute Übereinstimmung mit der Agar-Roll-Technik auf. In allen Fällen konnten die gleichen Erreger isoliert werden. Unterschiede bzgl. des Wachstums können durch das Ausrollen der Agar-Roll-Technik entstanden sein, wodurch sich einige Erreger abgelöst haben können. Zusammenfassend betrachtet gibt es bei den einzelnen Methoden jedoch keine größeren Abweichungen. Zur Kultivierung der Katheter sind daher alle Methoden gleichermaßen geeignet.

5.3.2 Vergleich bezüglich des Vorliegens einer Infektion

Da eine katheterassoziierte Infektion jedoch nicht allein durch eine positive Kultur sondern vorrangig durch die Anzahl der KbE/ml nachgewiesen werden kann, wurden die einzelnen Methoden anschließend hinsichtlich des Vorliegens einer katheterassoziierten Infektion mit der Agar-Roll-Technik verglichen (laut Definition der jeweiligen Methode).

Mit einer Sensitivität von 100 % erkannte die Bouillonmethode eine katheterassoziierte Infektion immer, es bestand dabei jedoch die Gefahr eines falsch positiven Ergebnisses. Ein negatives Ergebnis bei dieser Methode konnte somit das Vorliegen einer katheterassoziierten Infektion sehr gut ausschließen. Aufgrund der geringen Spezifität von nur 34,1 % kann diese Methode eine derartige Infektion bei einem positiven Ergebnis jedoch nicht beweisen. Die Bouillonmethode dient daher vorrangig dazu, das Vorliegen einer katheterassoziierten Infektion auszuschließen.

Die Vortexmethode liefert bezüglich des Vorliegens einer katheterassoziierten Infektion ebenfalls ein gutes Ergebnis. Mit einer Spezifität von 100 % zeigt sie bei einem positiven Testergebnis das Vorliegen einer katheterassoziierten Infektion in jedem Fall an. Eine solche Infektion kann aufgrund der geringen Sensitivität jedoch auch eine als nicht infektiös diagnostizierte Katheterspitzen auslösen. Dieser Test kann eine katheterassoziierte Infektion somit in jedem Fall nachweisen, wenn das Testergebnis positiv ist. Ein negatives Ergebnis kann die Krankheit hingegen nicht sicher ausschließen, da die Untersuchung aufgrund der hohen Spezifität eine geringere Sensitivität aufweist und somit oft falsch negativ sein kann.

Bei der Ultraschallmethode liegen Sensitivität bei 46,2 % und Spezifität bei 98,7 %. Auch diese Methode eignet sich für die Diagnostik katheterassoziierten Infektion. Sie kann eine katheterassoziierte Infektion ähnlich wie die Vortexmethode aufgrund geringer Sensitivität und dafür hoher Spezifität bei einem positiven Testergebnis gut beweisen, bei einem negativen Ergebnis hingegen nicht ausschließen.

Für den Ausschluss einer katheterassoziierten Infektion eignet sich laut dieser Studie die Bouillonmethode am besten. Die Bouillonmethode dient in erster Linie zum Nachweis jeglicher Erreger an der Katheterspitze. Durch die Anreicherung der Katheterspitzen für 48 Stunden in einer Hirn-Herz-Bouillon konnten durch das anschließende Ausstreichen der Bouillon alle Bakterien nachgewiesen werden. Bei den anderen Methoden diente die Nährbouillon hingegen lediglich zur Vorbereitung/Aufbereitung der Katheterspitze für die eigentliche Methode. In diesen Fällen wurde noch am Tag der Einsendung eine Kultur angesetzt. Die Bouillonmethode lieferte aufgrund der Anreicherung in jedem Fall alle Katheter, an denen sich Bakterien befanden. Bei dieser Methode bestand jedoch die Gefahr falsch positiver Ergebnisse, da eine quantitative Auswertung dieser Methode nach Anreicherung durch die Nährbouillon nicht mehr möglich war. Soll eine katheterassoziierte Infektion bei einem Patienten sicher ausgeschlossen werden, sollte diese Methode eingesetzt werden, da sie in jedem Fall alle katheterassoziierten Infektionen erkennt.

Die Ultraschall- und Vortexmethode eignen sich hingegen gleichermaßen als Methode zum Nachweis einer solchen Infektion, da bei einem positiven Ergebnis tatsächlich eine katheterassoziierte Infektion vorliegt. Befinden sich an der Katheterspitze so viele Bakterien, dass sie mit einer dieser Methoden nachgewiesen werden können, dann liegt mit großer Wahrscheinlichkeit tatsächlich eine katheterassoziierte Infektion vor. Nachteil dieser Methoden ist, dass geringe Bakterienmengen, die durchaus in der Lage sein können eine katheterassoziierte Infektion auszulösen, nicht in jedem Falle erkannt werden.

5.4 Validierung der Methoden mit Hilfe klinischer Angaben

Um herauszufinden, welche Methode klinischen die zuverlässigsten Ergebnisse liefert, wurden die mikrobiologischen Ergebnisse der einzelnen Methoden anschließend mit den klinischen Angaben des behandelnden Arztes verglichen.

Zum sicheren Nachweis einer katheterassoziierten Infektion eignet sich die Ultraschallmethode mit einer Spezifität von 95,2 % am besten. Bei dieser Methode werden die Erreger von Innen- und Außenseite abgelöst und anschließend kultiviert. Denn in ca. 30 % ist der Katheter ausschließlich auf der Innenseite kolonisiert (Widmer et al. 2011). Diese Methode berücksichtigt somit die mikrobiologische Kontamination an Katheteraußen- und –innenseite. Zudem wird angenommen, dass durch den Ultraschall am Plastik haftende Bakterien abgelöst werden. Die Methode ist somit in der Lage eine Vielzahl der Bakterien, die in der Lage sind eine katheterassoziierte Infektion auszulösen, zu isolieren. Durch die Festlegung eines Grenzwertes wird darüber hinaus ausgeschlossen, dass falsch positive Ergebnisse diagnostiziert werden. Die Sensitivität der Ultraschallmethode liegt hingegen nur bei 28,6 %. Die Methode läuft somit Gefahr, katheterassoziierte Infektionen nicht immer zuverlässig diagnostizieren zu können. Die zuvor angewandte Agar-Roll-Technik könnte bereits Erreger abgelöst haben, die anschließend mit der Ultraschallmethode nicht mehr nachgewiesen werden konnten. Diese Methode beweist eine katheterassoziierte Infektion bei einem positiven Testergebnis aufgrund der guten Spezifität mit hoher Wahrscheinlichkeit, kann bei negativem Ergebnis eine solche Infektion jedoch meist nicht ausschließen, da die Untersuchung häufig falsch negativ sein kann.

Mit einer Sensitivität von 62,5 % eignet sich die Bouillonmethode im Vergleich zu den 3 weiteren Methoden zur sicheren Erkennung einer katheterassoziierten Infektion. Dennoch liegt die Sensitivität dieses Tests wider erwartend niedrig. Es wurde vermutet, dass diese Methode eine höhere Sensitivität aufweist. Gründe für diese Vermutungen waren, dass die Erreger auf beiden Seiten berücksichtigt werden und die Anreicherungsbouillon bereits kleine Bakterienmengen nachweisen kann. Es wurde daher erwartet, dass es der Bouillonmethode, wie beim Vergleich mit der Agar-Roll-Technik gelingt, alle möglichen katheterassoziierten Infektionen nachzuweisen. Da für die Sensitivitätstestung lediglich 8 Katheter vorlagen kann vermutet werden, dass die Anzahl für eine derartige Beurteilung nicht ausreichend war. Die hohe Spezifität wurde bei dieser Methode ebenfalls nicht erwartet, da es sich hierbei nicht um eine quantitative Testmethode handelt, bei der ein Grenzwert für das tatsächliche Vorliegen einer katheterassoziierten Infektion vorliegt. Aus

diesem Grund und der zusätzlichen Anreicherung mit Hilfe der Nährbouillon wurde mit mehr falsch positiven Testergebnissen gerechnet.

Agar-Roll-Technik und Vortexmethode liefern in etwa die gleichen Ergebnisse. Sie weisen ähnlich wie die Ultraschallmethode eine geringe Sensitivität und dafür eine höhere Spezifität auf. Mit einer Sensitivität von 44,7 % bzw. 27,3 % können sie eine katheterassoziierte Infektion somit ebenfalls nicht so sicher ausschließen wie dies die Bouillonmethode tut. Durch die Spezifität von 76,9 % bzw. 83,3 % beweisen sie eine katheterassoziierte Infektion bei einem positiven Testergebnis vielmehr, als diese mit einem negativen Ergebnis wirklich ausschließen zu können.

Bei der Agar-Roll-Technik kann eine katheterassoziierte Infektion somit bei einem positiven Testergebnis gut nachgewiesen, bei einem negativen Testergebnis jedoch nicht ausgeschlossen werden. Wie bereits erwähnt ist der Katheter in ca. 30 % ausschließlich auf der Innenseite kolonisiert. Es kann vermutet werden, dass diese Methode in der Lage ist alle katheterassoziierten Infektionen, die von der Außenseite des Katheters ausgehen, nachzuweisen. Lediglich in den 30 % in denen eine solche Infektion von der Innenseite des Katheters ausgeht, bleibt diese unerkannt. Ähnlich wie bei der Ultraschallmethode verhindert der Grenzwert von ≥ 15 Kolonien das zu häufige Auftreten von falsch positiven Ergebnissen. Die Sensitivität dieser Methode ist höher als bei Ultraschall- und Vortexmethode, durch die Agar-Roll-Technik kann eine katheterassoziierte Infektion beim Vorliegen eines positiven Testergebnis daher mit höherer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden.

Die Vortexmethode nach Brun-Buisson liefert ähnliche Ergebnisse wie die Ultraschallmethode. Da auch hier die Erreger von beiden Katheterseiten abgelöst und kultiviert werden sowie ein festgelegter Grenzwert vorliegt um falsch positive Ergebnisse zu vermeiden.

Bei allen Ergebnissen dieser Studie ist zu beachten, dass nicht in allen Fällen gleich viele Katheter mikrobiologisch untersucht wurden und nicht für alle ein vollständig ausgefüllter Fragebogen zur Verfügung stand. Der Vergleich der Ergebnisse ist daher nur eingeschränkt möglich.

5.5 Anwendbarkeit der Methoden für die Routinediagnostik

5.5.1 Methode zum sicheren Ausschluss katheterassoziierter Infektionen

Soll eine katheterassoziierte Infektion mit hoher Sicherheit ausgeschlossen werden, eignet sich die Bouillonmethode am besten. Durch die Anreicherung der an der Katheterspitze anhaftenden Bakterien können mit hoher Wahrscheinlichkeit alle Bakterien, die sich an der Katheterspitze befinden kultiviert werden. Dieses extrem sensitive Testverfahren eignet sich somit, um eine katheterassoziierte Infektion auszuschließen (wenn er negativ ist) oder aber als Suchtest, um eine katheterassoziierte Infektion keinesfalls zu verpassen. In letzterem Fall muss das Ergebnis dann meist noch mit einem anderen Test bestätigt werden, um falsch positive Ergebnisse ausschließen zu können. Soll eine katheterassoziierte Infektion also lediglich ausgeschlossen oder in jedem Falle gefunden werden, bietet dieser Test die zuverlässigsten Ergebnisse und eignet sich darüber hinaus auch aufgrund der einfachen Handhabung und der geringen Kontaminationsgefahr für die Routinediagnostik. Bei dieser Methode können die Katheter sofort vom Arzt in eine Bouillon gegeben und anschließend ins Labor transportiert werden. Die Gefahr einer Kontamination sowie der Aufwand für das mikrobiologische Personal sind auf diese Weise sehr gering, da der Katheter nicht noch einmal umkultiviert werden muss. Genau wie bei der Ultraschallmethode werden auch hier die Bakterien an Außen- und Innenseite des Katheters berücksichtigt. Dennoch konnte sich diese Methode nicht etablieren, da keine quantitative Erfassung des Erregerwachstums möglich ist. Durch das Anreichern der Bouillon konnte nach 48 Stunden Bebrütung, keinerlei Aussage darüber getroffen werden, wie viele Erreger sich zu Beginn tatsächlich an den Katheterspitzen befanden. Die Gefahr eines falsch positiven Ergebnisses ist aufgrund dessen, dass kein Grenzwert etabliert wurde daher sehr hoch. Ein zusätzlicher Nachteil ist, dass mindestens 48 Stunden verstreichen müssen, ehe dem Arzt ein Teilbefund vorgelegt werden kann.

5.5.2 Methoden zum sicheren Nachweis katheterassoziierter Infektionen

Bei der Ultraschallmethode nach Sherertz handelt es sich um die spezifischste Methode zur Diagnostik katheterassoziierter Infektionen. Sie berücksichtigt wie bereits erwähnt Außen- und Innenseite des Katheters und löst darüber hinaus auch die am Plastik haftenden Bakterien ab. Katheter - die durch das Zurückziehen des Katheters durch die Haut – mit Hautkeimen kontaminiert wurden, werden mit Hilfe eines Grenzwertes herausgefiltert. Diese Methode stellt so bei positivem Testergebnis die beste diagnostische Methode für den Nachweis einer katheterassoziierte Infektion dar. Laut Sherertz sollte genau dies erreicht werden. Seine Überlegungen beruhten ähnlich wie die von Maki darauf, dass ein bestimmter Grenzwert etabliert werden sollte, um falsch positive Ergebnisse so gering wie möglich zu halten. Seine Überlegungen gingen jedoch über die von Maki hinaus. Maki berücksichtigte lediglich die Erreger die sich an der Außenseite des Katheters befanden, mit Hilfe seiner Methode sollten hingegen auch die Erreger von der Innenseite des Katheters mit einbezogen werden. Die Überlegungen Sherertz scheinen sich positiv auf die Spezifität dieser Methode auszuwirken. Der Methode gelingt es mit Hilfe des Ultraschallbades die Erreger von beiden Katheterseiten abzulösen und anschließend mit einem etablierten Grenzwertes sehr genau zwischen einem richtig und falsch positiven Ergebnis zu unterscheiden. Aufgrund des zeitlichen Aufwandes für die Kultivierung sowie der schwierigen Standardisierung des Ultraschallbades ist sie für die tägliche Routinediagnostik jedoch ungeeignet.

Bei der Vortexmethode handelt es sich ähnlich wie bei der Ultraschallmethode um eine sehr spezifische Methode. Ähnlich wie Sherertz gelang es auch Brun-Buisson eine sehr spezifische Methode zur Diagnostik katheterassoziierter Infektionen zu begründen. Er hatte bereits vor Sherertz die Problematik bezüglich der Erreger innerhalb des Katheters erkannt und eine Methodik entwickelt die Erreger von beiden Katheterseiten zu betrachten. Dennoch liefert diese Methode nicht so spezifisch Ergebnisse wie die Ultraschallmethode. Aufgrund eines Zeitaufwandes zur Kultivierung von etwa 5 Minuten pro Katheter ist sie darüber hinaus für die tägliche Diagnostik ebenso wenig geeignet.

Die Bouillonmethode liefert, wieder den Erwartungen eine hohe Spezifität. Sie ist laut dieser Studie trotz eines einfachen qualitativen Nachweises und der Anreicherung der Erreger in der Lage eine katheterassoziierte Infektion gut nachzuweisen. Wie bereits erwähnt überzeugt diese Methode auch durch ihre einfache Handhabung sowie einer geringen Kontaminationsgefahr.

Da im klinischen Alltag allerdings auf ein schnelles Testergebnis Wert gelegt wird, eignet sich nach wie vor die Agar-Roll-Technik nach Maki am besten. Sie weist neben einer guten Spezifität eine einfache Kultivierung und mit einem Teilbefund nach 24 Stunden ein schnelles Ergebnis für den behandelnden Arzt auf. Bei der Agar-Roll-Technik nach Maki handelt es sich daher nach wie vor um die Standardmethode zur Diagnostik katheterassoziiierter Infektionen. Laut Maki lag das Ziel der Untersuchungen darin einen Grenzwert zu etablieren, ab dem von einer „signifikanten“ Kolonisation gesprochen werden kann. Der einfache qualitative Nachweis von Erregern an der Katheterspitze durch die Inkubation des Katheters in einer Bouillon sollte dadurch abgelöst werden. Die Agar-Roll-Technik sollte nach Maki in der Lage sein, eine katheterassoziierte Infektion sicherer nachweisen zu können als dies die Bouillonmethode tat. In dieser Studie konnte dies jedoch nicht bestätigt werden. Die Spezifität der Agar-Roll-Technik liegt bei 76,9 % und die der Bouillonmethode bei 80,8 %. Die Bouillonmethode ist laut dieser Studie somit in der Lage eine katheterassoziierte Infektion, wenn auch nur in geringem Maße, häufiger Richtig zu diagnostizieren als dies die Agar-Roll-Technik kann. Dennoch ist die Überlegung von Maki einen Grenzwert zu etablieren berechtigt. Hautkeimen, die einen Katheter durch das Zurückziehen durch die Haut kontaminieren, sollte bei derartiger Untersuchung besondere Beachtung geschenkt werden, um falsch positive Ergebnisse zu vermeiden.

5.6 Übertragbarkeit der Agar-Roll-Technik

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war es, zu überprüfen, ob die Agar-Roll-Technik auf andere Kathetertypen übertragbar ist. Die Agar-Roll-Technik ist lediglich für zentrale Venenkatheter etabliert, eine Übertragbarkeit dieser Technik auf andere

Kathetertypen blieb bisher unklar. Anhand dieser Studie sollte festgestellt werden, ob eine Behandlung aller Kathetertypen mit dieser Methode möglich ist. Hierfür wurden alle Katheter ausgewählt, bei denen es sich nicht um einen zentralen Venenkatheter handelte, eine mikrobiologische Untersuchung anhand der Agar-Roll-Technik durchgeführt wurde und ein vollständig ausgefüllter Fragebogen vorlag.

Zu Beginn wurden alle Kathetertypen zusammen betrachtet. Anschließend wurde eine Unterteilung in intra- und extravaskulären Katheter vorgenommen. Da es sich bei arteriellen, Dialyse- und Pulmonal-arteriellen Kathetern ähnlich wie bei zentralen Venenkathetern um intravaskuläre Katheter handelt, wurde eine ähnliche Pathophysiologie angenommen. Es wurde daher vermutet, dass die Agar-Roll-Technik mit großer Wahrscheinlichkeit übertragbar ist. Bei Wunddrainagen, Hirndrucksonden und sonstigen Kathetern könnte die Pathophysiologie hingegen anders sein. Hinzu kommt, dass hier bereits geringere oder erst höhere Bakterienmengen zu einer katheterassoziierten Infektion führen könnten.

Sensitivität und Spezifität der Agar-Roll-Technik bezogen auf alle Katheter, bei denen es sich nicht um einen zentralen Venenkatheter handelte, konnte mit 50,0 % bzw. 92,6 % ermittelt werden. Die Agar-Roll-Technik kann somit bei einem positiven Ergebnis eine katheterassoziierte Infektion - auch wenn es sich nicht um einen zentralen Venenkatheter handelt - mit sehr großer Wahrscheinlichkeit beweisen. Bei einem negativen Ergebnis kann diese Methode eine solche Infektion meist jedoch nicht ausschließen, da sie aufgrund der geringen Sensitivität durchaus falsch negativ sein kann. Eine Übertragung der Agar-Roll-Technik auf andere Kathetertypen ist demnach durchaus möglich. Hinzu kommt, dass die Agar-Roll-Technik hier im Vergleich zur Diagnose bei zentralen Venenkathetern sogar eine höhere Sensitivität bzw. Spezifität aufweist.

Betrachtet man die intra- und extravaskulären Katheter getrennt voneinander, kann bei intravaskulären Kathetern eine Sensitivität und Spezifität von 50,0 % bzw. 100 % errechnet werden und bei extravaskulären Kathetern eine Spezifität von 86,7 %. Die Sensitivität konnte, wie bereits im Ergebnisteil erwähnt, bei extravaskulären Kathetern aufgrund fehlender Ergebnisse nicht berechnet werden. Auch anhand

dieser Ergebnisse fällt auf, dass die Agar-Roll-Technik durchaus auch auf nicht zentrale Venenkatheter übertragbar ist. Sowohl bei intra- als auch bei extravaskulären Kathetern kann eine katheterassoziierte Infektion mit Hilfe der Agar-Roll-Technik mit sehr großer Wahrscheinlichkeit richtig diagnostiziert werden. Bei intravaskulären Kathetern konnte sogar in allen Fällen eine solche Infektion richtig bewiesen werden.

Die Übertragung der Agar-Roll-Technik auf Nicht-ZVKs ist somit, wenn man eine katheterassoziierte Infektion mit hoher Wahrscheinlichkeit richtig diagnostizieren möchte, möglich. Zum sicheren Ausschluss einer katheterassoziierten Infektion oder als Suchtest, um eine katheterassoziierte Infektion keinesfalls zu verpassen, eignet sich dieser Methode jedoch bei Nicht-ZVKs nicht. Möchte man eine katheterassoziierte Infektion in jedem Falle erkennen, sollte man nach wie vor auf die Bouillonmethode zurückgreifen. Sie ist in der Lage, jegliche Erreger an der Katheterspitze zu diagnostizieren.

Um eine generelle Übertragbarkeit der Agar-Roll-Technik auf alle Kathetertypen feststellen zu können, sollten jedoch weitere Ergebnisse erfasst und bezüglich dieser Fragestellung ausgewertet werden.

6 Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene mikrobiologische Methoden zur Diagnostik katheterassoziierter Infektion untersucht. Hierfür wurden alle Katheter zunächst anhand der Agar-Roll-Technik nach Maki et al. und anschließend mit Hilfe einer der nachfolgenden Methoden kultiviert: Ultraschall-, Vortex-, Gramfärbe-, Bouillonmethode.

Zu Beginn wurden die jeweiligen Methoden mit der als Referenz geltenden Agar-Roll-Technik verglichen. Dabei konnten Aussagen bezüglich Kultur-positiver Katheter und Infektionswahrscheinlichkeiten getroffen werden. Lediglich die Gramfärbung stellte sich als ungeeignet heraus, da durch sie keine Erreger sichtbar gemacht werden konnten. Für eine Diagnose katheterassoziierter Infektionen war sie daher nicht geeignet. Um eine Aussage über die klinische Richtigkeit der einzelnen Methoden geben zu können, wurde anschließend jede Untersuchungstechnik unter Berücksichtigung der klinischen Daten validiert. Dabei konnte die Ultraschallmethode als sensitivste Herangehensweise ermittelt werden. Aufgrund der enorm aufwendigen Kultivierung ist sie im Labor jedoch nicht umsetzbar.

Die Agar-Roll-Technik eignet sich nach wie vor für die Diagnostik katheterassoziierter Infektionen am besten. Sie ist einfach und preiswert umzusetzen und lieferte bei der Mehrzahl der Katheter das richtige Ergebnis.

Es ist außerdem gelungen, eine weitere Methode zur Diagnostik katheterassoziierter Infektionen zu entwickeln. Man könnte auch diese Methode anhand einer weiteren Studie bezüglich ihrer Anwendbarkeit, Sensitivität und Spezifität beurteilen.

Des Weiteren sollte überprüft werden, wie weit die Agar-Roll-Technik auf andere Kathetertypen übertragbar ist. Anhand der bis jetzt vorliegenden Daten ist die Anwendung der Methode auch für andere Katheter denkbar. Da hier lediglich wenige verwendbare Ergebnisse vorlagen, sollte auch dieser Teil der Studie anhand eines längeren Studienzeitraums nochmals überprüft werden.

Das Thema katheterassoziierte Infektionen bedarf weiterer und intensiverer Forschung, da es nach wie vor noch keine zuverlässige labordiagnostische Methode zum Nachweis oder sicheren Ausschluss katheterassoziierter Infektionen gibt. Auch ist immer noch fraglich, in wie weit man die klinischen Daten heranziehen kann, da die Einschätzung des Patienten von vielen Parametern abhängt und letztlich auch subjektiv durch den behandelnden Arzt erfolgt.

7 Literaturverzeichnis

Bassetti S, Hu J, D'Agostino RB, Sherertz RJ. 2001. Prolonged Antimicrobial Activity of a Catheter Containing Chlorhexidine-Silver Sulfadiazine Extends Protection against Catheter Infections In Vivo. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001, 45(5), S. 1535-1538.

Berenholz SM, Pronovost PJ, Lipsett PA et al. 2004. Eliminating catheter-related bloodstream infections in the intensive care unit. *Crit Care Med.* 2004, 32, S. 2014-2020.

Blot F, Nitenberg MD, Chachatty E, et al. 1999. Diagnosis of catheter-related bacteraemia: a prospective comparison of the time to positivity of hub-blood versus peripheral-blood cultures. *Lancet.* 1999, 354, S. 1071-1077.

Blot F, Schmidt E, Nitenberg G, Tancrede C, Leclercq B, Laplanche A, Andremont A. 1998. Earlier Positivity of Central-Venous- versus Peripheral-Blood Cultures Is Highly Predictive of Catheter-Related Sepsis. *J Clin Microbiol.* 1998, 36/1, S. 105-109.

Brun-Buisson C, Abrouk F, Legrand P, Huet Y, Larabi S, Rapin M. 1987. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis. *Arch Intern Med.* 1987, 147/5, S. 873-877.

Cleri DJ, Corrado ML, Seligman SJ. 1980. Quantitative culture of intravenous catheters and other intravascular inserts. *J Infect Dis.* 1980, 141/6, S. 781-786.

Cooper GL, Hopkins CC. 1985. Rapid Diagnosis of Intravascular Catheter-Associated Infection by Direct Gram Staining of Catheter Segments. *N Engl J Med.* 1985, 312, S. 1142-1147.

Darouiche RO, Raad II, Heard, SO. 1999. A Comparison of Two Antimicrobial Impregnated Central Venous Catheters. *N Engl J Med.* 1999, 340, S. 1-8.

Daschner F, Dettenkofer M, Frank U, Scherrer M. 2006. *Praktische Krankenhaushygiene und Umweltschutz.* 3. Auflage. Heidelberg : Springer Verlag, 2006.

Donlan, Rodney. 2011. Biofilm Elimination on Intravascular Catheters: Important Considerations for the Infectious Disease Practitioner. *Clinical Infectious Diseases.* 2011, 52, S. 1038-1045.

Eggimann P, Pittet D. 2002. Overview of catheter-related infections with special emphasis on prevention based on educational programs. *Clin Microbiol Infect.* 2002, 8, S. 295-309.

Guggenbichler JP. Nosokomiale Infektionen in der Intensivmedizin - Inzidenz und Diagnose. http://www.antibiotikamonitor.at/3_04/3_04_2.htm [Online] [Zitat vom: 14. 06. 2011]

Hampton A, Sherertz RJ. 1988. Vascular-access infections in hospitalized patients. *Surg.Clin.North.* 1988, 68, S. 57-71.

Maki DG, Weise CE, Sarafin HW. 1977. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. *N Engl J Med.* 1977, 296/23.

Marre R, Mertens T, Trautmann M, Zimmerli W. 2008. *Klinische Infektiologie - Infektionskrankheiten erkennen und behandeln.* München : Urban & Fischer Verlag, 2008.

Mauch H, Podbielski A, Herrmann M, Kniehl E. 2007. Blutkulturdiagnostik - Sepsis, Endokarditis, Katheterinfektionen. *MIQ - Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards.* München : Urban & Fischer Verlag, 2007, Bd. 3a.

Mermel LA, McCormick RD, Springman SR, Maki DG. 1991. The pathogenesis and epidemiology of catheter-related infection with pulmonary artery Swan-Ganz catheters: A prospective study utilizing molecular subtyping. *Am J Med.* 1991, 91, S. 197-205.

O'Grady. 2002. Guidelines for the Prevention of Interavascular Catheter-Related Infections and Appendices. *Centers for Disease control and Prevention (CDC) Hospital Infection Control Practices Advisory Committee.* 2002, 51, S. 1-26.

Pearson M, Abrutyn E. 1997. Reducing the risk for catheter related infections: a new strategy. *Ann Intern Med.* 1997, 127, S. 304-306.

Pinkawa M. 2001. Inzidenz der katheterassoziierten Infektionen auf einer kardiologisch - pulmonologischen Intensivstation Risikofaktoren und Bedeutung klinischer und laborchemischer Parameter. 2001. Aachen : Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Dissertation, 2001.

Raad I, Costerton W, Sabharwal U, Sadlowski M, Anaissie E, Bodey G. 1993. Ultrastructural Analysis of Indwelling Vascular Catheters - A Quantitative Relationship between Luminal Colonization and Duration of Placement. *The Journal of Infectious Diseases.* 1993, 168/2, S. 400-407.

Robert Koch-Institut. 2001. Mitteilung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention zur Surveillance (Erfassung und Bewertung) von nosokomialen Infektionen (Umsetzung von § 23 IfSG). *Bundesgesundheitsbl.- Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz.* 2001, 44, S. 523-536.

Rüden H, Daschner F, Gastmeier P. 2000. *Krankenhausinfektionen: Empfehlungen für das Qualitätsmanagement.* Berlin : Springer Verlag, 2000.

Rupp ME, Lisco SJ, Lipsett PA et al. 2005. Effect of a Second-Generation Venous Catheter Impregnated with Chlorhexidine and Silver Sulfadiazine on Central Catheter-Related Infections. *Ann Intern Med.* 2005, 143/8, S. 570-580.

Schummer W, Schummer C. 2009. Jeder ZVK ein Infektionsrisiko. *HealthCare Journal.* 2009, 3, S. 38-40.

Schwarzer G, Türp JC, Antes G. 2002. Die Vierfeldertafel - Sensitivität und Spezifität. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift.* 2002, 57/2, S. 333-334.

Sherertz RJ, Ely EW, Westbrook DM et al. 2000. Education of physicians-in-training can decrease the risk for vascular catheter infection. *Ann Intern Med.* 2000, 132, S. 641-648.

Sherertz RJ, Raad II, Belani A, Koo LC, Rand KH, Pickett DL, Straub SA, Fauerbach LL. 1990. Three-Year Experience with sonicated vascular catheter Cultures in a Clinical Microbiology Laboratory. *J Clin Microbiol.* 1990, 28/1, S. 76-82.

Stein J, Jauch W. 2003. *Praxishandbuch klinische Ernährung und Infusionstherapie.* Berlin : Springer Verlag, 2003.

Trautmann M, Krier C. 2004. *Katheterinfektionen: Prävention, Diagnose und Management von Infektionen durch intravasale Katheter.* Stuttgart : Georg Thieme Verlag, 2004.

Veenstra DL, Saint S, Saha S, Lumley T, Sullivan SD. 1999. Efficacy of antiseptic-impregnated central venous catheters in preventing catheter-related bloodstream infection: a meta-analysis. *JAMA.* 1999, 281, S. 261-267.

Widmer A, Francioli P. Infektionen durch periphere Katheter. <http://www.swissnoso.ch/de/bulletin/articles/article/infektionen-durch-periphere-katheter> [Online] [Zitat vom: 14. 06. 2011]

Anhang A: CDC- und IDSA-Kriterien

CDC-Definitionen für die primäre Septikämie

(Robert Koch-Institut, 2001)

B1: Durch Labor bestätigte Sepsis

muss einem der nachfolgenden Kriterien entsprechen:

1. pathogener Erreger aus Blutkultur isoliert, welcher nicht mit Infektion an anderer Stelle verwandt* ist,
2. Eines der folgenden: Fieber ($>38^{\circ}\text{C}$), Schüttelfrost oder Hypotonie (systolischer Druck ≤ 90 mmHg) **und** eines der folgenden:
 - gewöhnlicher Hautkeim, welcher nicht mit einer Infektion an anderer Stelle verwandt* ist, wurde aus zwei zu verschiedenen Zeiten entnommenen Blutkulturen isoliert,
 - gewöhnlicher Hautkeim wurde in mindestens einer Blutkultur bei einem Patienten mit intravaskulärem Fremdkörper isoliert **und** Arzt beginnt entsprechende antimikrobielle Therapie,
 - positiver Antigen-Bluttest **und** Krankheitserreger ist mit Infektion an anderer Stelle nicht verwandt.

* Stimmt der aus der Blutkultur isolierte Mikroorganismus mit einer nosokomialen Infektion an anderer Stelle überein, wird die Sepsis als sekundäre Sepsis klassifiziert. Eine Ausnahme besteht bei der katheterassoziierten Sepsis, die als primäre klassifiziert wird, auch dann, wenn lokale Infektionszeichen an der Kathetereintrittsstelle ersichtlich sind.

B2: Klinische Sepsis

muss den folgenden Kriterien entsprechen:

eines der folgenden Anzeichen ohne andere erkennbare Ursache:

Fieber ($>38^{\circ}$), Hypotonie (systolischer Druck ≤ 90 mmHg), Oligurie (< 20 ml/h) ohne sonstige erkennbare Ursache **und** **sämtliche** der folgenden Anzeichen:

1. keine Blutkultur durchgeführt oder keine Mikroorganismen oder Antigene im Blut entdeckt,
2. Keine offensichtliche Infektion an anderer Stelle,
3. Arzt leitet eine Therapie wegen Sepsis ein.

Definition der IDSA für katheterassoziierte Infektionen

(Marre R, 2008)

Infektion	Definition
Katheterkolonisation	Keimnachweis in signifikanter Keimzahl an der Katheterspitze, oder an einem subkutanen Kathetersegment, oder an der Katheter-Konnektionsstelle (Nachweis durch quantitative oder semiquantitative Kultur)
Phlebitis	Rötung, Induration, Überwärmung, Schmerzen oder Druckschmerz an der Kathedereintrittsstelle
Lokalinfektion an der Kathedereintrittsstelle <ul style="list-style-type: none"> • mikrobiologische Diagnose • klinische Diagnose 	kultureller Nachweis eines Erregers aus dem Exsudat an der Eintrittsstelle, mit oder ohne gleichzeitig positive Blutkultur Rötung, Induration oder Druckschmerzhaftigkeit innerhalb 2 cm um die Eintrittsstelle; zusätzlich ggfs. weitere lokale oder systemische Infektionszeichen (Fieber, Eiterraustritt aus der Eintrittsstelle). Gleichzeitig kann eine Sepsis bestehen.
Tunnelinfektion	Druckschmerzhaftigkeit, Rötung und/oder Induration mit einer Ausdehnung > 2 cm von der Eintrittsstelle bzw. entlang dem subkutanen Katheterverlauf eines getunnelten Katheters (z.B. Hickman-, Broviac-Katheter), mit oder ohne gleichzeitige Sepsis
Tascheninfektion	Nachweis infizierter Flüssigkeit in der subkutanen Tasche eines vollständig implantierten Gefäßkatheters. Oft verbunden mit Druckschmerzhaftigkeit, Rötung und/oder Induration über der Tasche. Spontane Ruptur, Fistelbildung oder Nekrose der darüber liegenden Haut möglich. Gleichzeitig kann eine Sepsis bestehen.
Sepsis <ul style="list-style-type: none"> • Infusat-assoziiert • Katheter-assoziiert 	Wachstum des gleichen Erregers (Spezies, Antibiogramm) im Infusat und aus einer peripher (perkutan) entnommenen Blutkultur, ohne Hinweis für andere Infektlokalisation Bakteriämie oder Fungämie bei einem Patienten mit intravasalem Katheter und mindestens den folgenden drei Kriterien: <ul style="list-style-type: none"> • ≥ 1 positive Blutkultur aus einer peripheren Vene • klinische Infektionssymptome (z.B. Fieber, Schüttelfrost, Blutdruckabfall) • keine andere nachweisbare Infektionsquelle (außer dem Katheter). Mikrobiologisch sollte eines der folgenden Kriterien erfüllt sein: <ul style="list-style-type: none"> • Positive semiquantitative Katheterkultur nach Maki (≥ 15 Kolonien pro Kathetersegment) oder positive quantitative Katheterkultur ($\geq 10^2$ Kolonien pro Kathetersegment). Hierbei sollte der nachgewiesene Erreger identisch mit dem aus der Blutkultur nachgewiesenen Erreger sein (Spezies, Antibiogramm). • Mindestens 5:1-Verhältnis der Keimzahl bei quantitativer Blutkultur aus dem Katheter und einer peripheren Vene. • Mindestens zwei Stunden frühere Positivität einer durch den Katheter abgenommenen Blutkultur im Vergleich zu einer peripher abgenommenen Blutkultur (setzt automatisches Blutkultursystem voraus).
* Kriterien der IDSA (Infectious Diseases Society of America, Intravenous Guideline Subcommittee); nach Mermel et al. 2001	

Anhang B1: Fragebögen für die behandelnden Ärzte 1

Fragebogen für Bachelorarbeit:
-Infektionen durch intravaskuläre Katheter-

Name, Geburtsdatum

Punktionsstelle des Katheters:

Diagnose bei Patientenaufnahme:

Antibiotika vor Entfernung des Katheters:

Antibiotikaumstellung nach Katheterwechsel/ -entfernung: ☐ ja ☐ nein

wenn ja welche?

Liegedauer des Katheters:

Wurde ein beschichteter Katheter verwendet? ☐ ja ☐ nein

wenn ja welcher?

Gründe für Katheterwechsel/-entfernung

.....

Wurde die Kathetersepsis als Nebendiagnose kodiert: ☐ ja ☐ nein
☐ fraglich

Lag retrospektiv aus klinischer Sicht ohne Berücksichtigung des mikrobiologischen Befundes eine katheterassoziierte Infektion vor: ☐ ja ☐ nein
☐ fraglich

Anhang B2: Fragebögen für die behandelnden Ärzte 2

Fragebogen für Bachelorarbeit: -Infektionen durch intravaskuläre Katheter-

Name, Geburtsdatum

Auffälligkeiten an der Punktionsstelle: ☐ ja
☐ nein

wenn ja welche?

Liegedauer des Katheters:

Wurde ein beschichteter Katheter verwendet? ☐ ja
☐ nein

wenn ja welcher?

Gründe für Katheterwechsel/-entfernung: ☐ Infektionsverdacht
☐ routinemäßiger Wechsel
☐ Entlassung
☐

Lag aus klinischer Sicht ohne Berücksichtigung des mikrobiologischen Befundes eine katheterassoziierte Infektion vor:

☐ ja
☐ nein
☐ fraglich

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Quellen entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht.

Diese Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Mittweida, den 14.10.2011

Sabrina Päßler